



**Cláudia Nogueira Da Cunha**

Licenciatura em Engenharia Alimentar

**Avaliação da extensão do prazo de validade  
e do comportamento de Produtos IV Gama  
a diferentes temperaturas de refrigeração**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
Tecnologia e Segurança Alimentar

Orientador: Maria Paula Amaro de Castilho Duarte, Professora  
Auxiliar, FCT/UNL

Co-orientador: Délio Raimundo, Engenheiro Alimentar

Júri

Presidente: Prof. Doutora Ana Luísa Almaça da Cruz Fernando

Arguente: Prof. Doutor Paulo Renato Costa Figueiredo

Vogal: Prof. Doutora Maria Paula Amaro de Castilho Duarte



FACULDADE DE  
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

**Setembro 2018**





**Cláudia Nogueira Da Cunha**

Licenciatura em Engenharia Alimentar

## **Avaliação da extensão do prazo de validade e do comportamento de Produtos IV Gama a diferentes temperaturas de refrigeração**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
Tecnologia e Segurança Alimentar

Orientadora: Maria Paula Amaro de Castilho Duarte,  
Professora Auxiliar, FCT/UNL

Co-orientador: Délio Raimundo, Engenheiro Alimentar

Júri

Presidente: Prof. Doutora Ana Luísa Almaça da Cruz Fernando

Arguente: Prof. Doutor Paulo Renato Costa Figueiredo

Vogal: Prof. Doutora Maria Paula Amaro de Castilho Duarte



FACULDADE DE  
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

**Setembro 2018**

## Agradecimentos

Em primeiro lugar, quero agradecer a todas as pessoas da empresa onde foi realizado o estágio, que contribuíram para uma melhor compreensão de todos os processos, pela oportunidade que me concederam na realização deste trabalho e pelo apoio que manifestaram durante a sua realização.

Às minhas colegas Eng<sup>a</sup> Anastasya Belo e Eng<sup>a</sup> Daniela Firmino pela compreensão, entreajuda, solidariedade e pela disponibilidade a ajudar-me e a esclarecer todas as dúvidas sempre que precisasse.

À minha orientadora, Prof. Doutora Maria Paula Duarte, pela disponibilidade, informações e orientações, sempre que solicitadas.

Ao meu co-orientador, Eng<sup>o</sup> Délio Raimundo pelas informações e orientações que me acompanharam ao longo do trabalho e pela oportunidade de poder integrar na equipa do departamento de Qualidade.

Aos meus colegas, por todo o apoio, companheirismo e amizade.

E por último, mas os primeiros no meu coração, um especial agradecimento à minha família pela confiança, pelo apoio incondicional e pela presença ao longo deste período importantíssimo da minha vida. Sem eles nunca teria chegado à elaboração deste trabalho, desde o início que me incentivaram a continuar e prosseguir.

## Resumo

O consumo de hortofrutícolas em termos de mercado, tem crescido nos últimos anos contudo, a tecnologia dos produtos minimamente processados favorece a deterioração microbiológica, alterações fisiológicas e bioquímicas dos vegetais e aumenta os riscos de desenvolvimento de microrganismos patogénicos, tendo como principais desvantagens associados, o prazo de validade curto (7 dias), limitando a área geográfica onde podem ser comercializados e o custo elevado associado à sua produção. A gestão da temperatura ao longo da cadeia de distribuição é um dos parâmetros mais críticos. Durante o transporte, manuseamento e armazenamento a temperatura é muitas vezes inadequada, podem ocorrer flutuações na temperatura, resultando em deterioração do produto e consequentemente levam a custos elevados.

No presente trabalho, foi avaliado, o tempo de prateleira de sete produtos IV Gama (Salada Camponesa, Salada Ibérica, Alface Iceberg, Espinafre Baby, Rúcula Selvagem, Caldo Verde e Sopa Portuguesa), avaliando o seu aspeto, cor, odor, textura e a carga microbiana ao longo de dez dias de armazenamento a 4 °C. Foi ainda avaliado o efeito da conservação ao longo de dez dias a diferentes gamas de temperatura (1 a 4°C, 4 a 6°C e 6 a 8°C) no desenvolvimento de microrganismos nestes produtos. Tendo por base o controlo organolético e os limites legais estabelecidos para este tipo de produtos (Regulamento (CE) No 1441/2007) os resultados sugerem para a Rúcula Selvagem, Alface Iceberg e Sopa Portuguesa a possibilidade de alargar o prazo de tempo de vida útil até o 10º dia, para a Salada Ibérica e para o Espinafre Baby até ao 9º dia e para a Salada Camponesa e Caldo Verde até ao 8º dia. Contudo, considerando uma gama mais ampla de critérios microbiológicos (microrganismos totais a 30 °C, bolores e leveduras) os resultados apenas suportam o alargamento do prazo de validade para a Sopa Portuguesa e a Alface Iceberg.

Em relação ao efeito da temperatura de armazenamento na qualidade microbiológica dos produtos, os resultados mostraram a existência de oscilações nas contagens de microrganismos ao longo do ensaio. Contudo não foi possível estabelecer uma relação entre essas oscilações e a temperatura de armazenamento. Desta forma as oscilações de temperatura a que os produtos são normalmente sujeitos não parecem ter um efeito acentuado na qualidade microbiológica dos produtos. Apesar do aumento das contagens microbiológicas verificado, nunca foram ultrapassados os limites legais fixados pelo Regulamento 1441/2007.

**Palavras-chave:** Hortofrutícolas; Produtos minimamente processados; Temperatura; Tempo de prateleira, Qualidade microbiológica.

## Abstract

The consumption of fruit and vegetables in terms of market has been growing in recent years, however, the technology of minimally processed products favors microbiological deterioration, physiological and biochemical changes of plants and increases the risk of development of pathogenic microorganisms, having as main disadvantages the, short shelf life (7 days), limiting the geographical area where can be marketed and, the high cost associated with their production. Temperature management along the distribution chain is one of the most critical parameters. During transport, handling and storage the temperature is often inadequate, fluctuations in temperature may occur, resulting in deterioration of the product and consequently lead to high costs.

In the present work, has been evaluated, the shelf life of seven products IV Range (Peasant Salad, Iberian Salad, Iceberg, Baby Spinach, Wild Arugula, Green Broth and Portuguese Soup), evaluating the appearance, color, odor, texture and microbial load over ten days of storage at 4 °C. Still, it was also evaluated the effect of conservation over ten days at different temperature ranges (1 to 4°C, 4 to 6°C and 6 to 8°C) in the development of microorganisms in these products. Based on the organoleptic control and the legal limits established for this type of products (Regulation (EC) No 1441/2007) the results suggest for the Wild Arugula, Iceberg and Portuguese Soup the possibility of extending the shelf life until the 10th day, for the Iberian Salad and the Baby Spinach until the 9th day and for the Peasant Salad and the Green Broth until the 8th day. However, considering a broader range of microbiological criteria (total microorganisms at 30 ° C, molds and yeasts) the results only support the extension of the shelf life for the Portuguese Soup and Iceberg.

About the effect of the storage temperature on the microbiological quality of the products, the results showed the existence of oscillations in the counts of microorganisms during the test. However, it was not possible to establish a relationship between these oscillations and the storage temperature. In this way the temperature oscillations to which the products are normally subjected do not appear to have a marked effect on the microbiological quality of the products. Despite the increase in microbiological counts, the legal limits established by Regulation 1441/2007 were never exceeded.

**Key words:** Horticultural; “Fresh-cut” products; Temperature; Shelf life; Microbiological quality.



# Índice

Agradecimentos.....	iv
Resumo .....	v
Abstract.....	vi
Índice de Figuras .....	xi
Índice de tabelas .....	xii
Lista de abreviaturas .....	xiv
1. Introdução.....	1
1.1. A Empresa .....	3
1.2. Etapas do processamento na unidade industrial IV Gama .....	7
1.2.1. Receção da matéria-prima .....	8
1.2.2. Armazenamento de matéria-prima .....	8
1.2.3. Receção de matéria-prima na unidade IV Gama (Preparação) .....	8
1.2.4. Descasque e/ou corte/ tratamento antioxidante .....	9
1.2.5. Lavagem/Desinfecção / Enxaguamento .....	9
1.2.6. Secagem/Escurimento .....	9
1.2.7. Embalamento.....	10
1.2.8. Controlo de peso/Controlo de Metais.....	10
1.2.9. <i>Picking</i> /Etiquetagem/Embalamento.....	10
1.3. <i>Layout</i> dos produtos IV Gama.....	11
2. Produtos hortofrutícolas minimamente processados .....	13
2.1. Comércio e consumo dos produtos IV Gama .....	14
2.2. Parâmetros de avaliação da qualidade nos produtos hortofrutícolas .....	16
2.2.1. Cor e aparência .....	18
2.2.2. <i>Flavour</i> - sabor e aroma .....	18
2.2.3. Textura.....	19
2.2.4. Valor nutricional .....	19
2.2.5. Segurança .....	20
2.3. Principais mecanismos de perda de qualidade dos PMP .....	20
2.3.1. Fatores Pré-colheita .....	20
2.3.2. Fatores fisiológicos.....	22
2.3.2.1. Respiração.....	22
2.3.2.2. Transpiração.....	25
2.3.2.3. Biossíntese de Etileno .....	25
2.3.2.4. Atividade enzimática.....	27
2.3.2.5. Alterações nutricionais .....	29
2.3.3. Fatores ambientais .....	29
2.3.3.1. Temperatura .....	29
2.3.3.2. Humidade relativa e perda de água .....	30



2.4.	Microbiologia.....	31
2.5.	Embalagem.....	33
2.6.	Qualidade e Segurança Alimentar nos produtos hortofrutícolas.....	36
2.6.1.	Qualidade Alimentar .....	36
2.6.2.	Segurança Alimentar .....	38
2.6.1.1.	HACCP .....	39
2.6.1.2.	Normas para Certificação de um Sistema de Segurança Alimentar .....	41
3.	Metodologia .....	43
3.1.	Recolha de amostras.....	43
3.2.	Controlo organolético .....	43
3.3.	Controlo microbiológico .....	44
4.	Resultados e Discussão .....	49
4.1.	Avaliação da possibilidade de extensão do tempo de vida útil dos produtos IV Gama armazenados a uma temperatura de 1 a 4 °C .....	49
4.1.1.	Salada Ibérica e Espinafre <i>Baby</i> .....	49
4.1.1.1.	Controlo organolético .....	49
4.1.1.2.	Controlo microbiológico .....	50
4.1.2.	Salada Camponesa e Alface Iceberg.....	51
4.1.2.1.	Controlo organolético .....	51
4.1.2.2.	Controlo microbiológico .....	52
4.1.3.	Rúcula Selvagem e Caldo verde.....	54
4.1.3.1.	Controlo organolético .....	54
4.1.3.2.	Controlo microbiológico .....	55
4.1.4.	Sopa Portuguesa.....	56
4.1.4.1.	Controlo organolético .....	56
4.1.4.2.	Controlo microbiológico .....	56
4.1.5.	Apreciação geral sobre o ensaio de extensão do prazo de validade .....	57
4.2.	Avaliação do comportamento dos produtos IV Gama a diferentes temperaturas de refrigeração.....	60
4.2.1.	Salada Ibérica.....	60
4.2.2.	Espinafre <i>Baby</i> .....	60
4.2.3.	Salada Camponesa .....	64
4.2.4.	Alface Iceberg.....	64
4.2.5.	Rúcula Selvagem .....	67
4.2.6.	Caldo Verde.....	67
4.2.7.	Sopa Portuguesa.....	70
4.2.8.	Apreciação geral sobre o ensaio de conservação a diferentes temperaturas .....	72
5.	Conclusão.....	73
6.	Referências Bibliográficas .....	75



## Índice de Figuras

<b>Figura 1.1-</b> Fluxograma das etapas utilizadas no PM dos produtos IV Gama.....	7
<b>Figura 1.2-</b> Planta da unidade industrial IV Gama.....	12
<b>Figura 2.1 -</b> Taxa respiratória de frutos climatéricos e não-climatéricos.....	24
<b>Figura 2.2-</b> Influência da aplicação de diferentes concentrações de etileno (0,1 a 1000 µg/L) na respiração de frutos climatéricos e não-climatéricos.....	26
<b>Figura 4.1-</b> Análises microbiológicas realizadas à Salada Ibérica ao longo de dez dias de armazenamento a uma temperatura de 1 a 4 °C (T1), 4 a 6 °C (T2) e 6 a 8 °C (T3).....	62
<b>Figura 4.2-</b> Análises microbiológicas realizadas ao Espinafre Baby ao longo de dez dias de armazenamento a uma temperatura de 1 a 4 °C (T1), 4 a 6 °C (T2) e 6 a 8 °C (T3).....	63
<b>Figura 4.3-</b> Análises microbiológicas realizadas à Salada Camponesa ao longo de dez dias de armazenamento a uma temperatura de 1 a 4 °C (T1), 4 a 6 °C (T2) e 6 a 8 °C (T3).....	65
<b>Figura 4.4-</b> Análises microbiológicas realizadas à Alface Iceberg ao longo de dez dias de armazenamento a uma temperatura de 1 a 4 °C (T1), 4 a 6 °C (T2) e 6 a 8 °C (T3).....	66
<b>Figura 4.5 -</b> Análises microbiológicas realizadas à Rúcula Selvagem ao longo de dez dias de armazenamento a uma temperatura de 1 a 4 °C (T1), 4 a 6 °C (T2) e 6 a 8 °C (T3).....	68
<b>Figura 4.6 -</b> Análises microbiológicas realizadas ao Caldo Verde ao longo de dez dias de armazenamento a uma temperatura de 1 a 4 °C (T1), 4 a 6 °C (T2) e 6 a 8 °C (T3).....	69
<b>Figura 4.7 -</b> Análises microbiológicas realizadas à Sopa Portuguesa ao longo de dez dias de armazenamento a uma temperatura de 1 a 4 °C (T1), 4 a 6 °C (T2) e 6 a 8 °C (T3).....	71

## Índice de tabelas

<b>Tabela 1.1-</b> Saladas produzidas na empresa e respetivas matérias-primas utilizadas. ....	4
<b>Tabela 1.2-</b> Sopas produzidas na empresa e respetivas matérias-primas utilizadas. ....	5
<b>Tabela 1.3-</b> Salteados produzidos na empresa e respetivas matérias-primas utilizadas. ....	5
<b>Tabela 1.4-</b> Fruta produzida na empresa.....	6
<b>Tabela 1.5-</b> Outros produtos produzidos na empresa e respetivo processamento.....	6
<b>Tabela 2.1-</b> Atributos de qualidade e parâmetros avaliados em hortofrutícolas frescos.....	17
<b>Tabela 2.2-</b> Classificação dos produtos hortofrutícolas segundo a respetiva taxa respiratória. ....	23
<b>Tabela 2.3 -</b> Taxas respiratórias de cenoura em diferentes condições de temperatura, composição de atmosfera e tratamentos mecânicos. ....	24
<b>Tabela 2.4 -</b> Taxa de produção de etileno à temperatura de 20 °C .....	26
<b>Tabela 2.5 -</b> Exemplos de composição de atmosfera recomendada para produtos hortofrutícolas.....	35
<b>Tabela 2.6 -</b> Vantagens e desvantagens da utilização da embalagem com ATM.....	35
<b>Tabela 3.1-</b> Valores utilizados para avaliação da qualidade microbiológica dos produtos em análise.....	44
<b>Tabela 4.1 -</b> Resultados do controlo organolético, nos tempos estipulados, da Salada Ibérica.....	49
<b>Tabela 4.2-</b> Resultados do controlo organolético, nos tempos estipulados, do Espinafre Baby.....	50
<b>Tabela 4.3 -</b> Resultados do controlo microbiológico, nos tempos estipulados, da Salada Ibérica.....	51
<b>Tabela 4.4 -</b> Resultados do controlo microbiológico, nos tempos estipulados, do Espinafre Baby. ....	51
<b>Tabela 4.5 -</b> Resultados do controlo organolético, nos tempos estipulados, da Salada Camponesa. ....	52
<b>Tabela 4.6 -</b> Resultados do controlo organolético, nos tempos estipulados, da Alface Iceberg. ....	52
<b>Tabela 4.7-</b> Resultados do controlo microbiológico, nos tempos estipulados, para a Salada Camponesa .....	53
<b>Tabela 4.8 -</b> Resultados do controlo microbiológico, nos tempos estipulados, para a Alface Iceberg. ....	53
<b>Tabela 4.9 -</b> Resultados do controlo organolético, nos tempos estipulados, da Rúcula Selvagem.....	54
<b>Tabela 4.10-</b> Resultados do controlo organolético, nos tempos estipulados, do Caldo verde.....	54
<b>Tabela 4.11-</b> Resultados do controlo microbiológico, nos tempos estipulados, para a Rúcula Selvagem.....	55
<b>Tabela 4.12 -</b> Resultados do controlo microbiológico, nos tempos estipulados, para o Caldo Verde. ....	55
<b>Tabela 4.13 -</b> Resultados do controlo organolético, nos tempos estipulados, da Sopa Portuguesa. ..	56
<b>Tabela 4.14 -</b> Resultados do controlo microbiológico, nos tempos estipulados, para a Sopa Portuguesa. ....	57



## Lista de abreviaturas

**ATM:** Atmosfera Modificada

**BRC:** *British Retail Consortium*

**Aw:** Atividade da Água

**BPA:** Boas Práticas Agrícolas

**BPF:** Boas Práticas de Fabrico

**FAO:** *Food and Agriculture Organization*

**FIFO:** *First In First Out*

**HACCP:** *Hazard Analysis and Critical Control Points* (Análise de perigos e Controlo de pontos críticos)

**HMP:** Hortofrutícolas Minimamente Processados

**HR:** Humidade Relativa

**IFS:** *International Food Standard*

**ISO:** *International Organization for Standardization*

**NP:** Norma Portuguesa

**OMS:** Organização Mundial de Saúde

**PM:** Processamento Mínimo

**PMP:** Produtos Minimamente Processados

# 1. Introdução

O desenvolvimento de novas tecnologias, sociedades multiculturais, bem como a mudança de normas e valores sociais resultaram num aumento do nível de vida das populações e numa maior consciencialização dos consumidores relativamente ao valor nutricional dos alimentos. Com todos estes fatores, a exigência dos consumidores aumentou, levando à necessidade de adaptação da indústria alimentar na disponibilização de novos produtos saudáveis e de elevada conveniência (Buckley et al., 2007). Os hortofrutícolas são constituintes importantes para uma alimentação saudável pois possuem baixa energia e são fontes de micronutrientes, fibras e outros componentes com propriedades funcionais, além disso o seu consumo ajuda a prevenir doenças crónicas (Rico et al., 2007; Patrignani et al., 2015). A Organização Mundial da Saúde (OMS), assim como muitas autoridades responsáveis pela saúde de vários países do mundo, aconselham o consumo de 400 g de hortofrutícolas por dia, para diminuir o número de doenças crónicas não transmissíveis em todo o mundo (Ahern et al., 2013).

Os consumidores geralmente compram produtos frescos por conveniência, frescura, valor nutritivo, segurança e experiência alimentar. A procura dos consumidores por esses atributos levou, ao surgimento de uma indústria de hortofrutícolas minimamente processados (HMP)(FAO, 2011). Tais produtos facilitam a preparação de refeições variadas saudáveis e agradáveis, permitindo ganhar tempo e reduzir o desperdício, uma vez que o consumidor leva para casa apenas a parte comestível do produto (Santos et al., 2012). O processamento mínimo (PM) de hortofrutícolas tem como objetivo fornecer um produto conveniente para o consumidor com características semelhantes às do produto fresco, sem perder as suas qualidades nutricionais e sensoriais e com tempo de durabilidade suficiente desde o início da distribuição até ao consumo, através da utilização de processamentos mínimos e que assegurem a sua qualidade (Colelli e Elia, 2009).

O mercado de produtos de IV Gama, pela sua comodidade e facilidade de utilização, tem vindo assim a crescer significativamente no mercado Europeu e Mundial (FAO, 2011). Entende-se por produtos de IV Gama, qualquer tipo de fruta ou hortaliça que tenha sofrido alterações físicas, como operações de lavagem, descasque e corte, encontrando-se pronto a consumir (Silva e Vieira, 2017).

Os HMP não são produtos estéreis, continuam com todos os processos metabólicos e são suscetíveis à deterioração da qualidade e à contaminação microbiana, devido ao aumento da atividade enzimática, transpiração e respiração. Após a colheita, a qualidade dos produtos só pode ser mantida, não melhorada, durante o processamento apenas ocorre uma diminuição moderada da flora microbiana, exigindo-se um processo de refrigeração rigoroso, para evitar o crescimento microbiano e, especialmente, o crescimento de microrganismos patogénicos (Santos e Oliveira, 2012; Caleb et al., 2013; Mahajan et al., 2017). A fisiologia dos HMP é, essencialmente, a do tecido ferido. A resposta aos danos mecânicos, principalmente nas etapas de corte ou redução das dimensões dos alimentos, induz um número de distúrbios fisiológicos que precisam de ser minimizados para obter produtos frescos e de qualidade. Sendo assim, o armazenamento dos HMP em condições adequadas é fundamental para o sucesso destes produtos. Desse modo, a temperatura, a humidade relativa e a

composição atmosférica no interior da embalagem são condições ambientais que podem ser manipuladas para diminuir a respiração do vegetal e minimizar o crescimento microbiano (Alves et al., 2010; Mahajan et al., 2017).

A segurança e a qualidade microbiológica dos produtos minimamente processados (PMP) tem sido motivo de preocupação nas últimas décadas devido ao aumento de associação com surtos de origem alimentar relacionados ao consumo de vegetais crus (Azeredo et al., 2011). A sobrevivência e o crescimento de agentes patogénicos dependem de fatores intrínsecos e extrínsecos dos alimentos, como a composição nutricional e a presença de substâncias anti-microbianas naturais, pH, textura, valor da atividade da água ( $a_w$ ), temperatura e a atmosfera gasosa que envolve o alimento (SCF, 2002; Baptista e Venâncio, 2003). O desafio é encontrar condições em que a proliferação microbiana e a degradação do vegetal sejam retardadas, para a manutenção da qualidade, aumento do tempo de vida útil do produto e para garantir a segurança e a aceitabilidade por parte dos consumidores (Mahajan, Luca e Edelenbos, 2014).

Para a garantia da vida útil dos PMP, é necessário um controlo rígido de temperatura e embalagem, uma higiene e desinfeção eficientes, bem como, uma preocupação na manutenção da qualidade dos produtos, com atenção ao sabor, ao aroma e ao valor nutricional (Sarantópoulos, 2011). O controlo deficiente da temperatura em todas as etapas do processo, a ausência da tecnologia de atmosfera gasosa modificada nas embalagens e a não implementação de ferramentas de qualidade, tais como as Boas Práticas Agrícolas e de Fabrico (BPA e BPF), são fatores importantes na indústria de PMP podendo ser a causa de muitos problemas (Gil et al., 2015).

O armazenamento dos HMP deve ser, obrigatoriamente, a uma temperatura de refrigeração que ronda os 4 °C, temperatura à qual as embalagens são mantidas até à sua expedição. A gestão da temperatura ao longo da cadeia de distribuição é um dos parâmetros mais críticos. Durante o transporte, manuseamento e armazenamento a temperatura é muitas vezes inadequada, resultando em deterioração (Nascimento et al., 2014). A temperatura de armazenamento é considerada de suma importância para a evolução da qualidade microbiana e visual dos PMP. O conhecimento de oscilações de temperatura dos PMP na cadeia de frio é necessário para determinar a influência da temperatura na perda de qualidade e no prazo de validade. A comercialização de PMP tem como principais desvantagens associadas, o prazo de validade curto, tipicamente de alguns dias, limitando a área geográfica onde podem ser comercializados e o custo elevado associado à sua produção (FAO, 2011).

O presente trabalho foi realizado entre os meses de Fevereiro e Julho de 2018, numa unidade de Processamento mínimo de hortofrutícolas localizada em Torres Vedras. Apesar do prazo de validade dos produtos já estarem bem consolidados (7 dias), vários produtos já embalados são mantidos em *stock* por um maior período de tempo, de modo a cumprir com encomendas nos dias posteriores, sendo de interesse perceber o comportamento, a nível sensorial e microbiológico, de determinados produtos durante um período de vida útil maior. Por outro lado, devido a diversos fatores, como períodos atmosféricos de maior calor, abertura das portas dos camiões com uma maior frequência ou pontuais avarias nos sistemas de refrigeração dos veículos de transporte, podem



ocorrer pequenas variações de temperatura durante a cadeia de armazenamento a frio e distribuição até ao consumidor final. Sendo assim surgiu também o interesse da empresa em avaliar o comportamento de determinados produtos a diferentes temperaturas de refrigeração de modo a perceber se essas variações que se podem verificar constituem ou não um risco para o consumidor.

Assim, este trabalho teve por objetivos:

1) Avaliar o comportamento de um grupo de produtos considerados como os mais significativos, nomeadamente, a Salada Camponesa, Salada Ibérica, Alface Iceberg, Espinafre *Baby*, Rúcula Selvagem, Caldo Verde e Sopa Portuguesa, durante um tempo de prateleira de 10 dias, de forma a averiguar a possibilidade de extensão do seu tempo de vida útil.

2) Perceber o comportamento deste mesmo grupo de produtos durante o armazenamento a diferentes temperaturas de refrigeração, nomeadamente nos intervalos 1-4°C, 4-6°C e 6-8°C, de forma a perceber o impacto que as quebras da cadeia de frio podem ter na segurança destes produtos.

## 1.1. A Empresa

A empresa onde o estudo em questão foi realizado, foi criada com o objetivo de concentrar a produção e a comercialização de frutas e produtos hortícolas produzidos pelos produtores associados, fundada em 1994 e reconhecida como Organização de Produtores hortofrutícolas, sucessivamente em 1995 e 1997. A empresa ocupa uma área com cerca de 10 000 m<sup>2</sup>, implementada numa área total de 20 000 m<sup>2</sup>, em Torres Vedras, na qual conserva e embala principalmente batata, maçã, pêra e legumes.

No ano 2000, a empresa para além do embalamento e comercialização de produtos hortofrutícolas sem processamento, decidiu apostar numa nova área de negócios apresentando ao mercado um produto já preparado e lavado, pronto a ser utilizado ou a consumir, os designados PMP ou produtos de IV Gama, que mantêm as características da matéria-prima devido à atmosfera protetora da embalagem em que se encontram e à conservação em cadeia de frio. Atualmente, dada a crescente apetência por parte dos clientes por estes produtos, produzem-se na unidade de IV Gama, os mais diversos produtos desde saladas diversas, preparados para sopas ou fruta minimamente processada (Tabela 1.1, 1.2, 1.3 e 1.4). Para além destes produtos, a empresa ainda produz e embala batata para fins diversos, seja para ir ao forno ou em preparações de sopas, cebola, já descascada e lavada, apta para diferentes usos culinários, pronta a ser utilizada, cenoura habitualmente utilizada em saladas, sopas e outros fins culinários, e ainda tomate, muito versátil e rico nutricionalmente (Tabela 1.5).

A empresa tem como objetivo a melhoria contínua das suas operações a todos os níveis, desde a produção até ao processamento dos produtos para comercialização comprometendo-se através da política de Qualidade e Segurança Alimentar tomando medidas para produzir alimentos seguros e que cumpram os requisitos legais e dos clientes.

**Tabela 1.1-** *Saladas produzidas na empresa e respectivas matérias-primas utilizadas.*

<b>Nome da Salada</b>	<b>Matérias-primas</b>
<b>Salada Camponesa</b>	Alface multifolhas verde, cenoura, couve roxa e milho
<b>Salada Gourmet</b>	Chicória, radicchio e canónigos
<b>Salada Premium</b>	Alface multifolhas verde e cenoura
<b>Salada Ibéria</b>	Alface frisada verde e roxa <i>baby</i> , rúcula
<b>Salada do Campo Maxi</b>	Alface verde, alface roxa e rúcula
<b>Salada Clássica</b>	Alface multifolhas, cenoura ripada
<b>Salada Mista</b>	Alface frisada, alface chicória, alface radicchio
<b>Salada Alface Multifolhas</b>	Alface multifolha verde
<b>Salada Lollo &amp; Tango</b>	Alface verde e roxa <i>baby</i>
<b>Salada Duo</b>	Alface multifolhas verde e roxa
<b>Salada Serrana</b>	Folha de carvalho vermelha, rúcula e agrião
<b>Salada Toscana</b>	Chicória, couve roxa, beterraba, cenoura
<b>Salada Aromática</b>	Alface multifolhas verde e roxa, coentros
<b>Salada com coentros</b>	Alface frisada <i>baby leaf</i> verde e roxa, coentros
<b>Alface Iceberg</b>	
<b>Alface frisada/<i>baby</i></b>	
<b>Rúcula</b>	
<b>Canónigos</b>	

**Tabela 1.2-** Sopas produzidas na empresa e respectivas matérias-primas utilizadas.

Produtos	Matérias-Primas
<b>Creme de Abóbora</b>	Abóbora, cebola, cenoura, nabo e alho seco
<b>Creme de Brócolos e Curgete</b>	Brócolos e Curgete
<b>Creme de Cenoura</b>	Cenoura, batata, cebola e alho seco
<b>Caldo Verde</b>	Couve galega ripada
<b>Sopa Juliana</b>	Couve lombarda, cenoura, nabo
<b>Sopa Portuguesa</b>	Cenoura, couve lombarda, alho francês
<b>Sopa de Legumes</b>	Couve lombarda, cenoura e alho francês
<b>Sopa de Espinafres</b>	Espinafres, cenoura, couve roxa, couve branca e alho francês
<b>Nabiças</b>	
<b>Espinafre para sopa</b>	
<b>Espinafre <i>baby</i></b>	
<b>Espinafre cortado</b>	
<b>Couve Lombarda para Sopa</b>	

**Tabela 1.3-** Salteados produzidos na empresa e respectivas matérias-primas utilizadas.

Produto	Matérias-primas
<b>Salteado Poderoso</b>	Couve branca, cenoura, couve kale
<b>Salteado Crocante</b>	Couve branca, cenoura, alho francês, pimento vermelho e brócolos
<b>Salteado Tenro</b>	Couve branca, cenoura, alho francês e curgete
<b>Mistura Saborosa</b>	Cenoura, couve-branca, alho-francês, curgete, brócolos
<b>Salteado Português</b>	Cenoura, alho-francês, couve branca, courgete, espinafre, cebola
<b>Salteado Mediterrâneo</b>	Couve-branca, alho-francês, cenoura, brócolos, pimento vermelho, cebola roxa
<b>Salteado Ibérico</b>	Couve branca, cenoura, alho francês, pimento vermelho e cebola
<b>Salteado Tradicional</b>	Alho francês, cenoura, curgete, espinafre <i>baby</i> , brócolos

**Tabela 1.4-** *Fruta produzida na empresa.*

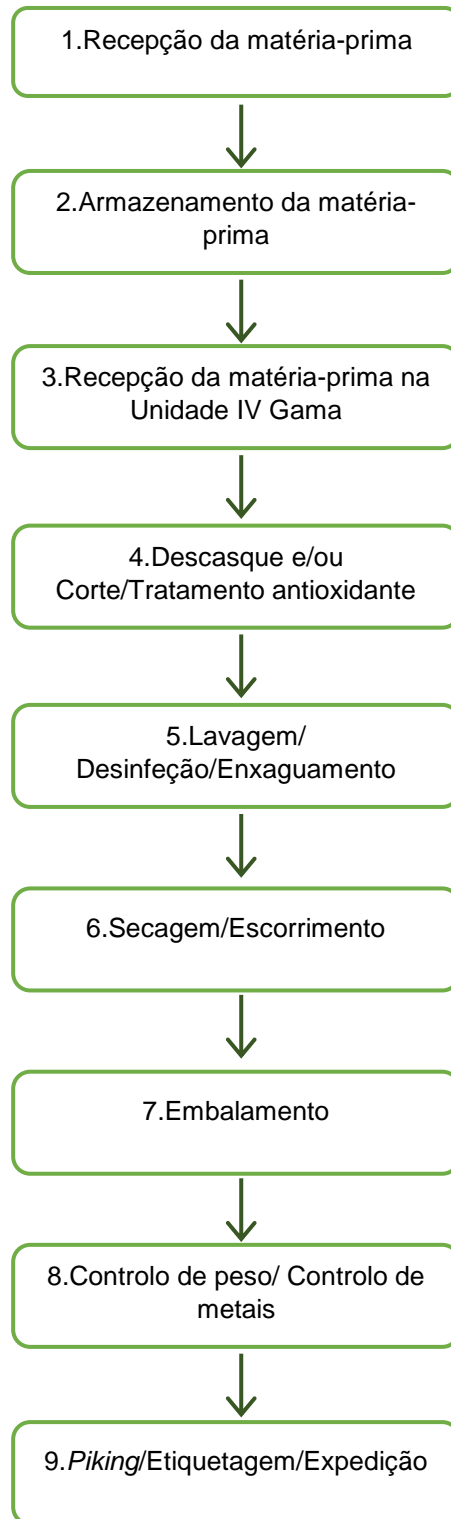
Produto
Maçã fatiada
Maçã Cubos
Uvas sem grainha
Abacaxi <i>stick</i>
Pêra fatiada
Meloa fatiada

**Tabela 1.5-** *Outros produtos produzidos na empresa e respectivo processamento.*

Produtos	Preparação
<b>Batata</b>	Batata inteira sem casca; Batata inteira com casca; Batata aos palitos sem casca; Batata aos palitos com casca; Batata aos gomos; Batata aos cubos; Batata em rodela sem casca; Batata em rodela com casca; Batata palha.
<b>Cebola</b>	Cebola inteira; Cebola em tiras e rodela; Cebola aos cubos; Cebola Roxa
<b>Cenoura</b>	Cenoura inteira; Cenoura aos cubos; Cenoura ripada
<b>Tomate</b>	Tomate em rodela; Tomate em cubos

## 1.2. Etapas do processamento na unidade industrial IV Gama

O fluxograma das operações utilizadas no PM dos produtos IV Gama na empresa estão representados na figura 1.1.



**Figura 1.1** - Fluxograma das etapas utilizadas no PM dos produtos IV Gama.

### 1.2.1. Receção da matéria-prima

A matéria-prima é transportada pelos produtores ou fornecedores até às instalações onde chega em caixas (cartão ou plástico) ou em palotes (plástico ou de madeira). Na receção, a matéria-prima é pesada e recebe uma etiqueta de identificação (Produtos, Guia/Lote de entrada, data de receção, quantidade recebida, vasilhame). Seguidamente, a matéria-prima é submetida à inspeção de qualidade (frescura, parasitas, acondicionamento, tamanho dos vegetais, a sua forma, cor e integridade do produto) e através da seleção de amostras ao acaso, é atribuída uma percentagem de refugo. Caso apresente características indesejáveis para o processamento, a matéria-prima é rejeitada e devolvida ao produtor. De entre as especificações da matéria-prima, é dada atenção aos aspetos de segurança, como níveis residuais de pesticidas e elevada carga microbiana, que são controlados através do adequado manuseamento, visitas periódicas e treino aos produtores.

A receção deve ser realizada com o máximo de cuidado para evitar danos mecânicos. Esta etapa deverá ser feita o mais rapidamente possível para que a cadeia de frio seja interrompida durante o menor período de tempo.

### 1.2.2. Armazenamento de matéria-prima

Após a receção das matérias-primas, estas são armazenadas em câmaras frigoríficas. As temperaturas ótimas de conservação das câmaras frigoríficas estão compreendidas num intervalo de 1 °C a 8 °C podendo variar este intervalo consoante o tipo de hortícola, fruto ou tubérculo a conservar. O sistema de armazenamento nas câmaras é do tipo FIFO (*first in, first out*), porque a matéria-prima destinada à IV gama é perecível. Podem, no entanto, ocorrer exceções a este sistema em produtos com menor perecibilidade, como é o exemplo das batatas ou cenouras, e em que se verifica que os defeitos do produto mais novo são evolutivos e condicionam a sua utilização com o decorrer do tempo.

### 1.2.3. Receção de matéria-prima na unidade IV Gama (Preparação)

A matéria-prima sai das câmaras frigoríficas e é direcionada para a produção, mais especificamente para a sala de preparação, onde são realizadas as seguintes tarefas: escolha/seleção, calibragem, pré-lavagem e/ou pré-desinfecção, quando necessária. Esta sala é climatizada para evitar diferenças de temperatura e uma maior degradação dos tecidos.

Escolha/Seleção: A matéria-prima é selecionada e preparada de maneira a obter uma maior uniformização do produto final. Esta etapa do processo tem como objetivo retirar todo o material vegetal estranho ou de qualidade deficiente. Os materiais a separar podem ser partes vegetais estranhas, outras cultivares ou mesmo matérias não vegetais que possam estar presentes.

Calibração: A calibração visa formar lotes de dimensões mais homogéneas. Faz-se a leitura ótica dos talões para a produção (lotes das matérias-primas) e é feita a identificação do produto por peso/cliente.

Pré-lavagem: A matéria-prima é dirigida para um processo de pré-lavagem em equipamentos, com agitação da água, ou em tanques em aço inoxidável, onde haja imersão do vegetal em água. Esta operação de lavagem tem por objetivo retirar alguns detritos que possam vir com os produtos hortícolas.

#### 1.2.4. Descasque e/ou corte/ tratamento antioxidante

Estas operações podem ou não ocorrer consoante o tipo de produto pretendido. O descasque é realizado na zona de baixo risco para a cebola, batata e cenoura, por descascadoras de abrasivo ou descascadoras com filamentos de descasque (raspam) para a batata e descascadora própria para a cebola. Pode ainda ocorrer o descasque manual de certos vegetais para sopas.

O corte é feito por equipamentos que utilizam sistemas de lâminas de corte diferenciados, em função do tamanho e espessura do produto, sendo realizado a alta velocidade para melhorar a precisão do corte e reduzir danos mecânicos no tecido vegetal do produto final.

Nesta fase entram antioxidantes e água, quando aplicável e saem águas residuais, refugo e resíduos de embalagens. O **tratamento antioxidante** é aplicado em todas as frutas preparadas e mistura de vegetais, na cenoura inteira ou cortada e na batata inteira ou cortada. São utilizados como antioxidantes o ácido ascórbico para a cenoura inteira, para a fruta preparada e cenoura em palitos e o metabissulfito para a batata.

#### 1.2.5. Lavagem/Desinfecção / Enxaguamento

Nesta fase a matéria-prima é conduzida para as linhas de lavagem (zona de alto cuidado), com tanques com água e cloro, onde se realiza a desinfecção, para retirar resíduos remanescentes e possíveis contaminações microbiológicas. As misturas de produtos (sopas e saladas) são colocadas manualmente pelo operador em porções já estabelecidas para cada produto, no início dos tanques de lavagem e estes auxiliam na homogeneização das misturas. Na desinfecção é utilizada uma solução de cloro, variando a concentração a utilizar consoante a quantidade de água no tanque da respetiva linha de produção (80 a 200 ppm). O controlo de qualidade realiza o controlo de cloro fazendo o respetivo registo. Após a desinfecção a matéria-prima passa por passadeiras levando com jatos de água de modo a efetuar-se o seu enxaguamento.

#### 1.2.6. Secagem/Escorrimento

Após a lavagem e desinfecção, os vegetais são conduzidos para o processo de secagem ou escorrimento onde é retirado o excesso de humidade do produto, de forma a melhorar a sua apresentação e vida útil, devido à redução da humidade no interior da embalagem. O processo de secagem pode ser realizado em contínuo ou em descontínuo por centrifugação ou por túnel de secagem de ar filtrado. Nesta fase poderá ocorrer a adição de ingredientes, como é o exemplo do milho, componente utilizado na salada camponesa.

### 1.2.7. Embalamento

Antes de se iniciar o embalamento, o embalador programa a embaladora vertical, faz a troca da película de embalagem e coloca o gás. A matéria-prima segue em linhas contínuas para as embaladoras verticais, onde é distribuída pelas cabeças de embalamento para as balanças que após obterem o peso programado abrem em simultâneo colocando o produto dentro de uma película micro-perfurada, originando o produto final. Após a pesagem, a embalagem plástica é selada com o auxílio de uma termoseladora.

Nesta etapa pode ocorrer a etiquetagem automática diretamente na embalagem, definida pelo operador ou pode ocorrer o embalamento manual e posterior etiquetagem igualmente manual.

### 1.2.8. Controlo de peso/Controlo de Metais

As embalagens seguem por uma passadeira em contínuo para o controlador de pesos dinâmico, quando o peso é não-conforme, este rejeita automaticamente as embalagens.

Após o controlo do peso, as embalagens passam pelo controlo de metais, quando este deteta algum metal o tapete para, dando um alerta luminoso ou acústico, ou rejeita a embalagem. As embalagens rejeitadas pelo controlador de peso são re-embaladas, no entanto as embalagens rejeitadas pelo detetor de metais são entregues ao controlo de qualidade para preenchimento do registo de não conformidades e posteriormente os vegetais seguem para refugo.

Nesta fase, o produto acondicionado deve ser submetido a uma inspeção visual para assegurar a integridade da embalagem, para evitar a sua recontaminação. Na rotulagem constam as seguintes informações, marca, identificação do fabricante, data de fabrico, especificação do produto, validade, condições de conservação (temperatura) peso líquido do produto e componentes utilizados.

### 1.2.9. Picking/Etiquetagem/Embalamento

Nesta fase, o produto já se encontra embalado, poderá ocorrer a etiquetagem manual dos produtos ou automática. Os produtos são colocados em caixas de plástico ou de cartão. As caixas de plástico sempre que retornam para a empresa, seguem um programa de limpeza e desinfecção.

O produto é armazenado na sala de expedição onde se fazem as cargas de acordo com as encomendas por cliente e respetivo *picking*. Este armazenamento é efetuado a uma temperatura que varia de 1 a 4 °C. A temperatura de conservação é crítica neste estágio, sendo um dos fatores mais importantes na manutenção da qualidade e na segurança do alimento, tendo que se controlar a temperatura na sala de *Picking/Expedição*.

O controlo de qualidade realiza a verificação das cargas, e faz o respetivo registo, antes de estas saírem para expedição. Os produtos são depois distribuídos em camiões refrigerados.



### 1.3. *Layout dos produtos IV Gama.*

Considerada uma unidade de processamento de alto-risco, a unidade de PM de hortofrutícolas está localizada dentro da unidade fabril principal, longe de possíveis fontes de contaminação, como gases e poeiras. Os materiais utilizados no pavimento, paredes e tetos são aptos para o fim a que se destinam e permitem uma adequada higienização. A drenagem é natural, não permitindo quaisquer recuos ou inadequados escoamentos.

Para a preparação dos produtos de IV Gama, as instalações dividem-se em zonas de baixo risco e zonas de alto cuidado. A zona de baixo risco abrange as áreas de receção da matéria-prima, de descasque de inteiros (batata, cenoura, cebola), da sala de preparação e as áreas de *picking*, etiquetagem e expedição.

A sala de preparação, onde se realiza o corte e/ou descasque, é composta por três linhas com ligação à zona de alto cuidado, sendo que uma delas é composta por uma cortadora que utiliza sistemas de lâminas de corte diferenciados, em função do tamanho e espessura do produto, sendo realizado a alta velocidade. Antes do produto ir para a cortadora é realizado o corte e seleção manualmente, com o objetivo de reduzir a dimensão do produto (por ex. corte de alface em quatro). Nas restantes duas linhas, o corte e seleção são realizados pelos operadores que colocam os produtos em passadeiras que os encaminham para as restantes fases (zona de alto cuidado). Ainda na sala de preparação é realizado a preparação de caldo verde, exclusivamente numa cortadora própria, com um disco rotativo que faz as tiras do caldo. A couve é selecionada manualmente e o corte dos calos é realizado manualmente, de seguida um operador coloca as folhas já preparadas na máquina onde é realizado o corte sendo o produto resultante direcionado para caixas. O operador vai retirando as caixas e coloca-as em paletes que são depois direcionadas para sala de embalagem na zona de alto cuidado. O controlo de metais, com exceção da batata, é efetuado na zona de baixo risco.

A zona de alto cuidado abrange as áreas de sala de embalagem, o corte de inteiros (batata, cenoura, cebola) e embalagem dos mesmos. Na sala de embalagem são realizadas as operações de lavagem/desinfecção, secagem/centrifugação e posterior embalagem. Nesta sala ainda são preparados, maçã fatiada, abacaxi cortado, meloa, pêra fatiada e tomate cortado que seguem um processo semelhante ao dos vegetais preparados.

A figura 1.2 apresenta o *layout* das instalações de processamento dos produtos IV Gama na empresa.

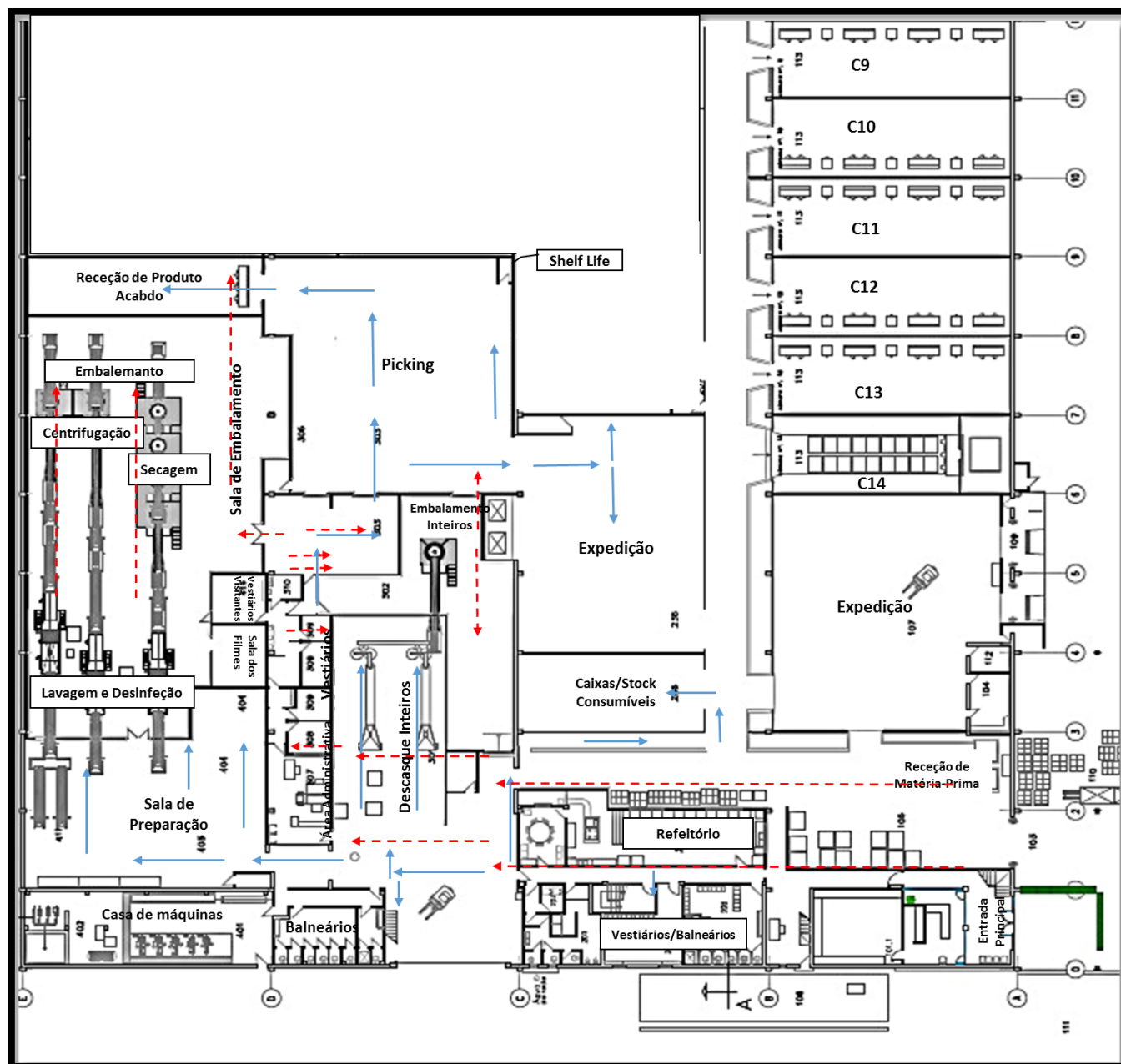


Figura 1. 2 - Planta da unidade industrial IV Gama.

## 2. Produtos hortofrutícolas minimamente processados

Com a mudança nos hábitos de vida e com o aumento da percepção e preocupação da sociedade atual com a saúde, a procura por produtos hortofrutícolas de fácil utilização e disponibilidade tem vindo a aumentar (Santos, 2016). Os consumidores atuais preferem alimentos que preservem o seu valor nutricional, e essencialmente a cor natural, uma textura e sabor de elevada qualidade e o mais semelhante ao produto fresco, tendo preferência pela reduzida adição de aditivos sintéticos ou pela sua substituição por ingredientes naturais com propriedades semelhantes (Rico et al., 2007). Estas alterações nos requisitos de qualidade dos produtos alimentares criaram a oportunidade de desenvolvimento de novos produtos alimentares que proporcionem uma dieta equilibrada e ao mesmo tempo prática, com benefícios para a saúde. Neste contexto, procuram-se desenvolver produtos inovadores que cumpram requisitos legais e elevados padrões de qualidade. Como resposta a estes novos requisitos dos consumidores, na década de 90, foram lançados no mercado os PMP, também denominados por produtos de IV Gama (Buckley et al., 2007; Rico et al., 2007).

## 2.1. Comércio e consumo dos produtos IV Gama

Com origem francesa, a designação IV Gama é o resultado de um desenvolvimento do mercado de produtos agro-industriais e não da transformação das matérias-primas (Guiné, 2012). Surge, por ordem numérica, uma vez que, relativamente ao processamento efetuado, são consideradas cinco gamas de produtos: os produtos de I Gama, que são os alimentos naturais sem tratamento; os produtos congelados, ou produtos de II Gama, que têm a vantagem de poderem ser conservar durante longos períodos, mantendo as características próximas das originais; os produtos de III Gama ou produtos enlatados/em conserva, que são produtos cozinhados e esterilizados na própria embalagem, prontos a consumir e conservados à temperatura ambiente por períodos de tempo muito longos (superiores a um ano). Os hortofrutícolas de I Gama deram origem a produtos de IV Gama ao serem escolhidos, lavados/desinfetados, cortados e acondicionados em atmosfera modificada (ATM). Por último, a V Gama industrial diz respeito aos alimentos pré-cozinhados, prontos a consumir como tal, ou após um simples aquecimento, e conservados sem congelação, uma vez que resultam de processos de produção que asseguram suficiente estabilidade após confeção (Martins e Empis, 2000).

No mercado nacional encontram-se hoje em dia diversos produtos de IV Gama, para além de vantajoso sob o ponto de vista do consumidor, este modo de comercialização dos produtos hortofrutícolas permitiu também benefícios perante os agricultores e distribuidores, uma vez que facilitou atingir novos nichos de mercado (Rojas-Graü et al., 2011). Para o consumidor, este modo de comercialização permite o fornecimento de produtos prontos a utilizar e consumir, com teores reduzidos ou nulos de aditivos alimentares e com características nutricionais e qualidade sensorial próximas do fresco. Para além destas vantagens, evitam ainda as preocupações com a preparação e diminuem o tempo necessário para esta tarefa. Por um lado, os produtores e distribuidores aumentam os lucros, devido a tornarem-se mais racionais, com custos de manuseamento mais baixos (baixos volumes) e com menores perdas no armazenamento. Devido ao aumento de processos para a produção de produtos de IV Gama, o preço é superior relativamente aos produtos hortofrutícolas que dão origem aos mesmos, mas a qualidade e a segurança alimentar é compatível com o acréscimo do preço (Guiné, 2012).

Nos Estados Unidos da América, os PMP apareceram pela primeira vez nos mercados retalhistas na década de 1940, mas de segunda qualidade, a qualidade era imprevisível e o prazo de validade limitado. Em meados dos anos 1970, as cadeias de *fast food* começaram a utilizar alface fresca já cortada e cebola picada nas suas cadeias. Na década de 1980, restaurantes de *fast food*, estavam em grande crescimento nos Estados Unidos, sendo que os produtos frescos usados em saladas prontas para consumo, especialmente a alface, foram os itens mais necessários (Rojas-Graü et al., 2010). A venda de HMP tem crescido a aproximadamente 13.050.000.000 € por ano no serviço de alimentos e mercado de retalho, sendo responsável por 15 % de toda a produção de vendas. Esta é uma indicação de que a indústria de produtos frescos continua a ser o segmento de maior crescimento no setor de produtos (Nicola e Fontana, 2014). A maior parte dos PMP vendidos pelo retalho, são saladas frescas, com vendas que atingem os 2.349.000.000 € por ano. No entanto, o

setor de *fast food* está a aumentar a procura por frutas frescas já cortadas e embaladas, oferecendo escolhas mais saudáveis nos seus menus (Rojas-Graü et al., 2011).

Na Europa, os PMP frescos foram introduzidas em França no início de 1980 pelo Grupo Florette. Foi a primeira unidade de produção de HMP na Europa, que posteriormente iniciou diversas atividades para exportar para outros países, como o Reino Unido, Itália e Suíça. Os PMP foram adaptados a cada país de acordo com as preferências do consumidor, produção, distribuição e legislação (Rojas-Graü et al., 2010). O consumo e venda dos HMP aumentaram, devido à procura por conveniência e opções saudáveis de alimentação. Como resultado, enquanto o consumo *per capita* de hortofrutícolas diminuiu, os PMP aumentaram em cerca de 20 % das vendas de 2009 a 2014 (Ansah et al., 2018). O crescimento do volume de mercado na União Europeia (UE) é estimado em 4 % por ano. Atualmente, os volumes do mercado da UE são representados por 50 % de saladas MP, 40 % outros PMP (salteados, sopas, etc.) e 10 % de fruta fresca. O Reino Unido é o líder de mercado na Europa, com 1.221.000.000 € de vendas em produtos HMP e um terço do consumo total de HMP na UE (cerca de 480 mil toneladas) (Nicola e Fontana, 2014).

A Espanha é o país europeu com o maior e constante crescimento de produção e valor de mercado nos últimos anos. Em 2008, o valor do mercado espanhol foi de 200.000.000 €, com uma produção de quase 57 500 toneladas, das quais 25 % são para o serviço de alimentação e 75 % para o mercado retalhista. O sector continuou a crescer a 4 a 6 % por ano, atingindo 70 000 toneladas em 2010, com um valor de mercado superior a 300.000.000 € (Nicola e Fontana, 2014).

Em Portugal, esta gama de produtos, constitui um dos segmentos do sector alimentar com maior crescimento, e foi no ano de 2002 que se deu o início da sua comercialização, pelo grupo Florette. Numa entrevista realizada pela HIPERSUPER a 31 de Maio de 2016, ao diretor comercial e responsável da Florette Portugal, Paulo Dias, explica que a categoria de produto de IV Gama, na qual se inserem as saladas prontas e os legumes preparados para consumo, representou em 2015, 19.300.000 € em Portugal. A distribuição representou 75 % do negócio da empresa e o segmento de 'food service' abrange os restantes 25 % (Monteiro, 2016).

A informação e publicação de artigos relacionados com IV Gama em Portugal é ainda muito escassa, mas os estilos de vida atuais e o aumento do consumo no País apontam para uma crescente tendência na procura por este tipo de produtos. Segundo um estudo apresentado pela empresa Consulai, no seminário "IV Gama Hortofrutícola em Portugal" – Investigação e Industrialização, realizado em Santarém, a 17 de Novembro de 2017, a venda de produtos IV gama aumentou, entre 2015 e 2016, sendo que os legumes foram os que apresentaram maior crescimento de vendas (+18,7 %), seguindo-se as saladas (+13,4 %), a fruta (+8,0 %), as sopas (+6,7 %) e por último os temperos aromáticos (+3,7 %), representando cerca de 11.700.000 toneladas e 76.000.000 € de produtos IV Gama vendidos em Portugal.

## 2.2. Parâmetros de avaliação da qualidade nos produtos hortofrutícolas

Os hortofrutícolas frescos são essenciais na nutrição humana, uma vez que são fontes importantes de nutrientes, fibras alimentares e fitoquímicos com potenciais benefícios para a saúde. No entanto, para proporcionar esses benefícios nutricionais, cada produto deve ter a aparência, a textura, o sabor e o aroma (*flavour*) característicos esperados pelo consumidor. Cada produto também deve ser seguro e não estar contaminado e, além disso, os consumidores estão cada vez mais preocupados com a origem dos alimentos, o uso de produtos químicos, a energia e a sustentabilidade (Mahajan et al., 2017). Os consumidores geralmente avaliam um produto com base nestes quatro atributos por uma ordem específica, em primeiro lugar avaliamos a aparência visual e a cor, seguidos pelo aroma, sabor e textura (Beaulieu, 2011).

A qualidade é uma combinação de características que determina o valor dos produtos para o consumidor. O termo “qualidade”, é dividido em duas vertentes, as características intrínsecas que estão diretamente relacionadas com o produto (aspeto, frescura, tamanho, defeitos, forma, homogeneidade, cor, brilho, sabor, aroma, valor nutritivo, vitaminas, minerais, fibra, estado microbiológico, resíduos de pesticidas, produtos de limpeza e desinfecção) (Tabela 2.1) e as características exógenas, as quais nada têm a ver com o produto propriamente dito, mas sim com a apresentação, a identificação, a facilidade de consumo imediato, a correspondência com uma determinada marca e a relação preço/qualidade (Veiga et al., 2012).

**Tabela 2. 1** - Atributos de qualidade e parâmetros avaliados em hortofrutícolas frescos (adaptado de Mahajan et al., 2017).

Atributos de qualidade	Componentes e/ou parâmetros medidos
Aparência Visual	Tamanho: Dimensões, peso, volume Forma e aspeto: irregularidade e uniformidade Cor: Uniformidade, intensidade e brilho Danos: superficiais, internos, morfológicos, mecânicos, distúrbios fisiológicos, patológicos (decadência) e entomológicos
Textura	Dureza Estaladiço Firmeza Fibroso
Sabor e aroma ( <i>flavour</i> )	Doçura Adstringência Amargor Acidez Maus-sabores e maus - odores
Compostos nutricionais e bioativos	Hidratos de carbono (incluindo as fibras dietéticas) Proteínas Lípidos Vitaminas Minerais Compostos fenólicos Pigmentos
Segurança	Componentes tóxicos naturais Contaminantes: resíduos químicos de pesticidas e de metais pesados ou produtos de limpeza Micotoxinas Contaminação microbiana

A aparência do produto geralmente determina se este é aceite ou rejeitado, portanto, este é um dos atributos de qualidade mais críticos. O aroma refere-se ao cheiro de uma fruta ou produto vegetal, enquanto o *flavour* inclui aroma e sabor. A textura é muito ampla e engloba vários aspetos, uma vez que o produto é colocado na boca, pode perceber-se a maciez, a espessura, a firmeza, a dureza ou a friabilidade da fruta ou do material vegetal. O valor nutricional é um componente de qualidade extremamente importante, impossível de ver, saborear ou sentir. Embora o valor nutricional seja um atributo oculto, este fator de qualidade está a ser cada vez mais valorizado pelos consumidores, estando os alimentos funcionais e antioxidantes a tornar-se cada vez mais apreciados (Beaulieu, 2011; Barrett et al., 2010).

### 2.2.1. Cor e aparência

A cor é derivada dos pigmentos naturais presentes nos hortofrutícolas, muitos dos quais mudam à medida que a planta avança através da maturação e amadurecimento (Barret et al., 2010).

A aparência é determinada por fatores físicos, incluindo o tamanho, a forma, a integridade, a presença de defeitos (manchas, contusões, manchas, etc.), acabamento ou brilho e consistência (Tabela 2.1). O tamanho e a forma podem ser influenciados pela cultivar, maturidade, fatores de produção e pelo ambiente. É importante que os frutos e os legumes sejam de tamanho uniforme e formato característico. Alguns consumidores associam um tamanho maior com maior qualidade. A perda de frescura: folhas murchas, perda de brilho, amolecimento do tecido, mudanças de cor devido ao escurecimento enzimático ou distúrbios físicos, limosidade e absorção da água devido ao envelhecimento são aspetos relacionados com a redução da qualidade na aparência do produto (FAO, 2011).

A cor e a aparência atraem o consumidor para um produto e podem ajudar na altura de decisão de compra. No momento da compra, o consumidor usa fatores de aparência para fornecer uma indicação de frescura e qualidade do sabor. A aparência externa de uma fruta inteira é usada como um indicador de maturação, embora possa ser enganosa. Os consumidores geralmente têm uma cor já estabelecida para cada item específico. Cores que não são apropriadas para o item, indicativas de perda de frescura ou sugestivas de falta de maturação, podem afastar os consumidores (Barrett et al., 2010).

### 2.2.2. *Flavour*- sabor e aroma

Embora a cor e a aparência possam ser os atributos iniciais de qualidade que nos atraem para um produto hortofrutícola, o *flavour* pode ter o maior impacto sobre a aceitabilidade e o desejo de voltar a consumir o produto. Um bom sabor é uma garantia importante para a repetição da compra pelos consumidores que, geralmente, estão dispostos a pagar mais pelo sabor desejável (Beaulieu, 2011; Barrett et al., 2010).

O *Flavour* é tipicamente descrito pelo aroma (odor) e sabor. Os atributos de *flavour* podem ser descritos como a percepção de sabores e aromas provenientes de muitas fontes, incluindo açúcares para a doçura, acidez de ácidos orgânicos, tais como o ácido cítrico em laranjas e limões, o amargor e a adstringência de compostos fenólicos, e aromas a partir de compostos voláteis (Tabela 2.1) (Aked, 2002). Assim, o gosto pode ser dividido em cinco sabores primários - doce, azedo, salgado, amargo e umami. O umami pode ser descrito como um sabor associado aos sais de aminoácidos e nucleótidos (FAO, 2011).

Os compostos do aroma são voláteis e são detetados por terminações nervosas olfativas do nariz. Em contraste, o sabor é a deteção de compostos não voláteis por vários tipos de recetores na língua (Francis et al., 2012). Na avaliação de hortofrutícolas, é importante considerar os “sabores desagradáveis” e os “desejáveis”. Os *off flavors* podem ser produzidos através da ação de enzimas



como a lipooxigenase ou peroxidase, que formam radicais livres reativos e hidroperóxidos que podem catalisar a oxidação de compostos lipídicos. Quando essas reações ocorrem, o resultado pode ser o desenvolvimento de sabores indesejáveis descritos como rançoso, de papel, oxidado ou molhado. No entanto, há casos de reações catalisadas por enzimas que resultam em sabores desejáveis. Por exemplo, a liase do hidroperóxido catalisa a produção de sabores típicos do tomate (Barrett et al., 2010)

### 2.2.3. Textura

Os consumidores geralmente citam o sabor como o atributo de qualidade mais importante para os hortofrutícolas, mas os defeitos texturais e a interação entre o sabor e a textura são mais propensos de causar a rejeição de um produto fresco (Beaulieu, 2011).

A textura é um conjunto complexo de propriedades que definem um produto de qualidade. (Aked, 2002). As propriedades texturais de um alimento são, o grupo de características físicas que surgem dos elementos estruturais dos alimentos, são percebidas pela sensação de toque, estão relacionadas com a deformação, desintegração e fluxo do alimento sob uma força, e são medidas objetivamente por funções de massa, tempo e distância (Barret et al., 2010). Os atributos de textura podem ser descritos no contexto de firmeza ou de dureza, estaladiço, friabilidade, maciez, suculência, suavidade e tenacidade (Tabela 2.1) (FAO, 2011).

### 2.2.4. Valor nutricional

Os hortofrutícolas são importantes fontes de macro e micronutrientes. Assim, estes produtos podem conter teores interessantes de fibras, açúcares, vitamina C, vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina, B6, niacina, folato), pró-vitamina A, vitamina E, minerais, polifenóis, carotenoides e glucosinolatos (Tabela 2.1) (Ancos et al., 2011).

Ter uma imagem nutricional positiva pode ser um dos fatores que contribui para compras iniciais e continuadas pelos consumidores, embora as compras repetidas sejam determinadas pelos compostos de sabor e textura (Barrett et al., 2010).

### 2.2.5. Segurança

Alimentos seguros são alimentos livres de riscos físicos e químicos ou de microrganismos que causam efeitos adversos à saúde e à vida humana. A segurança é um componente de qualidade sendo, muitas vezes, considerado como o componente mais importante da qualidade, uma vez que alimentos não seguros podem resultar em danos graves para a saúde dos consumidores. O consumo de alimentos inseguros também pode levar a uma má imagem da marca e consequentemente à perda de negócios (Barrett et al., 2010). É importante considerar os níveis de tóxicos naturais de alguns produtos bem como, os níveis de segurança relacionados com resíduos químicos e metais pesados (Tabela 2.1) (Mahajan et al., 2017).

## 2.3. Principais mecanismos de perda de qualidade dos PMP

### 2.3.1. Fatores Pré-colheita

No caso dos PMP, os fatores pré-colheita que afetam a qualidade e o tempo de vida útil do produto têm recebido grande atenção. Entender a complexa interação entre os diferentes fatores pré-colheita e a maneira como eles podem ser geridos para fornecer aos produtores a matéria-prima mais adequada, com qualidade consistente durante todo o ano, permanece um desafio (Mahajan et al., 2017). Assim, devem ser implementados planos de produção cuidadosos, procurando reforçar as características positivas de uma determinada cultura e, consequentemente, a qualidade final e o prazo de validade dos PMP (Baldwin e Bai, 2011).

As condições de cultivo, como o sistema, a irrigação, o clima e a fertilização, influenciam a qualidade da matéria-prima e podem modificar o seu comportamento fisiológico e adequação para o PM. As condições de pré-colheita e colheita que afetam a qualidade e o prazo de validade dos vegetais estão relacionadas com (Nicola e Fontana et al., 2014):

- Fatores geneticamente controlados (espécie, cultivar);
- Condições climáticas (luz, temperatura, humidade relativa (HR), etc.);
- Condições do solo (tipo de solo, pH, humidade, microflora, doenças transmitidas pelo solo, etc.);
- Sistemas de cultura (cultivo em campo aberto, cultivo protegido, sistema sem solo, etc.);
- Práticas agrícolas (uso e tipo de fertilizantes, pesticidas, reguladores de crescimento, irrigação, etc.);
- Colheita (tempo de colheita e temperatura, colheita mecânica, colheita manual, etc.).

A seleção de cultivares apropriadas é fundamental para garantir as características de qualidade dos hortofrutícolas destinados ao PM (FAO, 2011). Devido à interação entre o genótipo e as condições ambientais, os produtores devem programar diferentes alturas de cultivo a cada estação (Mahajan et al., 2017).

As condições climáticas ótimas (temperatura, chuva, vento, luz) na colheita e a hora do dia a que os hortofrutícolas são colhidos, influenciam o sabor, textura e a cor dos HMP. O melhor tempo de colheita da matéria-prima para o PM depende da variedade, do tipo de cultura e das mudanças na atividade respiratória relacionadas com a altura da estação de colheita (Ansah et al., 2018). A localização e a altura da estação da plantação podem influenciar os níveis de ácido ascórbico, beta-caroteno, riboflavina, etc. Altos níveis de precipitação aumentam a suscetibilidade da planta a danos mecânicos. A baixa intensidade de luz geralmente resulta em níveis reduzidos de ácido ascórbico (vitamina C) no tecido da planta. A temperatura influencia a absorção de minerais pelas plantas durante a transpiração. A radiação solar intensa pode aumentar a temperatura dos frutos resultando consequentemente em danos e perda de firmeza dos frutos (FAO, 2011).

As práticas agrícolas, como a poda e corte, irrigação e fertilização, influenciam a qualidade da matéria-prima e podem modificar o seu comportamento fisiológico e adequação para o PM. A maturação dos frutos pode ser afetada pelo uso de pesticidas e reguladores de crescimento. A qualidade do solo em relação à composição de nutrientes tem um impacto imediato no desenvolvimento de frutos e na textura, aparência e sabor dos mesmos (FAO, 2011; Mahajan et al., 2017).

A fertilização afeta tanto a qualidade na colheita quanto a vida útil pós-colheita de vegetais. A alta adubação com azoto é utilizada para aumentar o tamanho do produto, mas pode reduzir a produção de compostos voláteis e promover mudanças no sabor do produto; outros elementos também mostram uma resposta oposta, como altos níveis de potássio, que podem reduzir distúrbios de cor, enquanto altos níveis de magnésio podem aumentá-los. Ou seja, as diferenças nutricionais das plantas podem afetar o tamanho do produto, a firmeza e a suscetibilidade à perda de peso (Montero-Calderón e Cerdas-Araya, 2011).

O uso eficiente da água pelos sistemas de irrigação é necessário para garantir a sustentabilidade do meio ambiente, mas também para garantir a qualidade dos produtos (Mahajan et al., 2017). Outro fator que deve ser levado em consideração é o pH e a dureza da água. O pH deve ser neutro ou um pouco alcalino (pH entre 7,0 e 8,3) para preservar os equipamentos, e melhorar a eficiência dos agentes de limpeza e sanitização (Kluge et al., 2016). É importante identificar as práticas agrícolas ótimas para aumentar a qualidade e o rendimento, evitando o excesso de nutrientes e de água, e incentivando os produtores a adotarem práticas agrícolas que aumentem a qualidade do produto (Nicola e Fontana et al., 2014).

### 2.3.2. Fatores fisiológicos

As operações de PM a que os hortofrutícolas são sujeitos conduzem ao aumento da atividade fisiológica e a alterações bioquímicas, potenciando ainda a deterioração microbiológica (Nascimento et al., 2014).

Os PMP deterioram-se mais rapidamente do que o produto intacto correspondente, como resultado de danos causados pelo PM (descasque, corte, trituração ou picar), o que acelera muitas mudanças fisiológicas que levam a uma redução na qualidade do produto e no prazo de validade. Assim, a fisiologia de HMP é essencialmente a do tecido ferido, que é submetido a um aumento na taxa de respiração e produção de etileno, degradação da membrana levando à rutura celular, descompartimentação de enzimas e substratos e acumulação de metabolitos secundários. Todas estas reações bioquímicas são responsáveis por mudanças nas características de qualidade, como textura, cor, sabor e valor nutricional (Francis et al., 2012; Nicola e Fontana 2014;).

#### 2.3.2.1. Respiração

Os HMP são tecidos vivos que continuam a respirar, pelo que as suas taxas de respiração variam ao longo do tempo e consoante as operações de processamento a que são sujeitos (Chien et al., 2007). A respiração neste tipo de produtos é um processo metabólico que fornece a energia necessária para outras reações bioquímicas da planta (Caleb et al., 2013). Neste processo ocorre a decomposição de compostos orgânicos complexos como hidratos de carbono, lípidos e ácidos orgânicos, em moléculas mais simples como o dióxido de carbono e água, com a libertação de energia (Vermeulen et al., 2018).

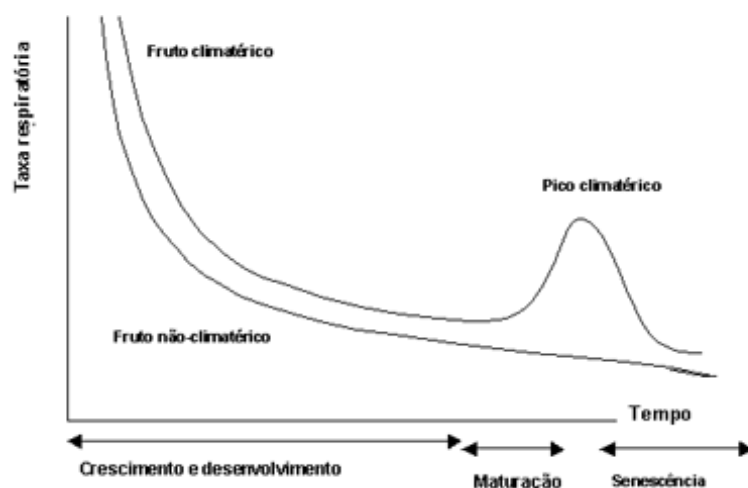
Os produtos hortofrutícolas podem ser classificados segundo a sua taxa respiratória em seis classes: taxa respiratória muito baixa, baixa, moderada, alta, muito alta e extremamente alta (Tabela 2.2). O conhecimento da taxa respiratória dos produtos hortofrutícolas é importante na medida em que, em igualdade de outros fatores, é inversamente proporcional à capacidade de conservação dos mesmos (Martins e Empis, 2000).

**Tabela 2. 2- Classificação dos produtos hortofrutícolas segundo a respetiva taxa respiratória (adaptado de Martins e Empis, 2000).**

<b>Classe</b>	<b>mg CO<sub>2</sub> libertado/kg.h ( a 5°C)</b>	<b>Vegetal</b>
<b>Muito baixa</b>	< 5	Tâmara, frutos e vegetais secos.
<b>Baixa</b>	5-10	Maçã, frutos cítricos, alho, cebola, uva, batata, ananás, melancia
<b>Moderada</b>	10-20	Pêssego, banana, mirtilo, abóbora, cenoura, cereja, figo, alface, manga, nectarina, pêssego, tomate.
<b>Alta</b>	20-40	Couve-flor, groselha, lima, folhas de alface, framboesa.
<b>Muito Alta</b>	40-60	Brócolos, couve-de-bruxelas, endívia, quiabo.
<b>Extremamente alta</b>	> 60	Espargo, salsa, ervilha, espinafre.

A cinética do processo de respiração é amplamente dependente do tipo ou variedade dos produtos frescos, do estágio de maturação, das condições de armazenamento (disponibilidade de O<sub>2</sub>, temperatura, etc.) e processamento (corte, lavagem, descontaminação, etc.) (Vermeulen et al., 2018).

Se os frutos forem climatéricos verifica-se a capacidade de amadurecerem separados da planta, mesmo quando colhidos imaturos. Pelo contrário, os frutos não-climatéricos, só podem amadurecer na planta; a produção de etileno não aumenta durante o amadurecimento (Giovannoni, 2001). Ou seja, nos produtos climatéricos ocorre uma diminuição lenta na taxa de respiração imediatamente após a colheita, até que o mínimo pré-climatérico seja atingido (produto imaturo). Em seguida, a taxa de respiração aumenta e apresenta um máximo, o pico climatérico, na fase da maturação, a que se segue uma descida acentuada. Este aumento na respiração ocorre simultaneamente ou após o aumento da taxa de produção de etileno. A seguir à fase climatérica, os produtos entram em senescência (Figura 2.1). Os produtos não climatéricos amadurecem sem pico de etileno e respiração. A taxa de respiração aumenta lentamente com a produção de etileno. Este processo de amadurecimento dos hortofrutícolas provoca mudanças na cor, sabor e textura. Produtos frescos que são cortados, cortados em fatias ou triturados terão uma taxa respiratória mais alta, uma vez que o ferimento dos tecidos induz taxas de produção de etileno elevadas que podem estimular a taxa de respiração. O aumento desta taxa traduz-se num maior consumo de substâncias de reserva e na biossíntese de metabolitos secundários, que levam à alteração das características sensoriais dos produtos bem como do seu valor nutricional (Martins e Empis, 2000; Vermeulen et al., 2018).



**Figura 2.1** - Taxa respiratória de frutos climatéricos e não-climatéricos. (Fonte: Martins e Empis, 2000)

Para além de variar com a cultivar, a taxa respiratória dos diferentes vegetais é afetada por condições extrínsecas, como a temperatura e a composição da atmosfera. Assim, a taxa respiratória aumenta com a temperatura e com o teor de  $O_2$  na atmosfera envolvente. As atmosferas modificadas utilizadas na conservação de HMP, normalmente com baixo teor de  $O_2$  e alto de  $CO_2$  e, as temperaturas de refrigeração utilizadas contribuem, para uma diminuição da taxa respiratória.

Os danos mecânicos a que os vegetais são sujeitos durante a preparação também, contribuem para o aumento da taxa respiratória. O exemplo da cenoura, apresentado na tabela 2.3, mostra que a taxa de libertação de  $CO_2$  aumenta com o aumento da superfície específica do produto. A cenoura em palitos apresenta uma taxa de produção de  $CO_2$  muito superior à cenoura inteira, sendo esse aumento muito maior à temperatura de  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  do que à temperatura de  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ . O aumento da taxa de respiração da cenoura em palitos em relação à cenoura inteira foi de cerca de duas vezes à temperatura de  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  e de mais de cinco vezes no caso de a temperatura ser  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Este facto não pode ser ignorado na conservação de produtos HMP, pois quanto maior for a extensão do tratamento mecânico mais cuidados são necessários na manutenção da temperatura de conservação.

**Tabela 2. 3** - Taxas respiratórias de cenoura em diferentes condições de temperatura, composição de atmosfera e tratamentos mecânicos (Fonte: Martins e Empis, 2000).

Produto	Atmosfera	Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	Taxa respiratória (mL/kg.h)
Cenoura inteira	Ar	0	3,7
		10	5,2
Cenoura em palitos	Ar	0	5,9
		10	26,8
	0,5% $O_2$ +10% $CO_2$	0	3,6
		10	7,3
Cenoura em fatias	Ar	0	3,0
		10	12,7
	0,5% $O_2$ +10% $CO_2$	0	1,6
		10	3,3

O controlo da taxa de respiração é fundamental para a manutenção da vida útil dos PMP. Esta taxa pode ser reduzida utilizando-se baixas temperaturas desde o processamento do produto até a sua comercialização. Também podem ser aplicadas outras tecnologias como o uso de atmosferas modificadas, embalagens inteligentes e biorreguladores que ajudem na diminuição da respiração e, consequentemente, contribuam para uma maior longevidade dos PMP (Kluge et al., 2016).

#### 2.3.2.2. Transpiração

Outro processo fisiológico de importância significativa na qualidade pós-colheita de produtos frescos e minimamente processados é a transpiração. Quando o produto fresco é separado da planta em crescimento, este vai depender exclusivamente do conteúdo interno de água para a transpiração, resultando numa perda de água (Caleb et al., 2013). Esta perda de água do produto fresco leva à perda de massa e de turgescência, a alterações na textura, que podem levar à rejeição do produto por parte do consumidor (Montero-Calderón e Cerdas-Araya, 2011). Além disso, no caso de desidratação grave, ocorrem perdas consideráveis no próprio produto, uma vez que, no caso dos vegetais folhosos, um número excessivo de folhas secas deve ser removido para tornar o produto comercializável.

A transpiração é influenciada por características do produto, como por exemplo, características morfológicas, a relação superfície/volume, danos na epiderme e estado de maturação, sendo também influenciada por fatores externos, tais como, a temperatura, a humidade relativa e a circulação de ar (Molina et al., 2015). Como processo físico, a transpiração pode ser controlada aplicando tratamentos ao produto, como a utilização de revestimentos comestíveis, ou manipulando o ambiente, mantendo a humidade relativa elevada e controlando a circulação de ar (Kader, 2007).

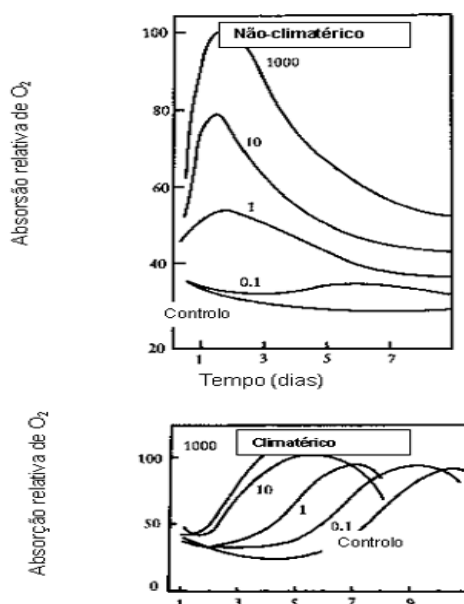
#### 2.3.2.3. Biossíntese de Etileno

O etileno é uma hormona de crescimento das plantas e ocorre naturalmente, tendo vários efeitos sobre o crescimento, o desenvolvimento e a duração da conservação de muitos hortofrutícolas e plantas ornamentais (Babat et al., 2010). A produção de etileno pelos hortofrutícolas varia com o tipo de vegetal, bem como com o grau de maturação, aumentando à medida que a maturação avança (Martins e Empis, 2000). Na tabela 2.4 está representada a classificação de alguns hortofrutícolas segundo a taxa de produção de etileno.

**Tabela 2.4** - Taxa de produção de etileno à temperatura de 20 °C (adaptado de Martins e Empis, 2000).

Classe	Produção a 20°C (µL/kg/h)	Produtos
Muito baixa	< 0,1	Batata, Morango, raízes de leguminosas, uva.
Baixa	0,1-1,0	Ananás, framboesa, Kiwi.
Média	1,0-10,0	Banana, manga, melão, tomate, figo, laranja.
Elevada	10,0-100	Maçã, pêssego, nectarina, pera, papaia.
Muito elevada	>100	Maracujá, cherimoia, couve.

O etileno estimula a respiração dos tecidos e órgãos da planta. No entanto, esta resposta difere entre os frutos climatéricos e não climatéricos, por exemplo, a exposição de frutos climatéricos a concentrações fisiológicas de etileno diminui o tempo a que o pico climatérico ocorre, estimulando a maturação sem efeito substancial na intensidade respiratória. Uma vez iniciada a maturação, a remoção do etileno não tem efeito sobre o padrão respiratório subsequente. No caso de frutas não climatéricas, a respiração é estimulada pelo etileno em proporção à concentração aplicada no entanto, ao remover o etileno, a taxa de atividade respiratória retorna ao valor base encontrado antes do tratamento (figura 2.2) (Molina et al., 2015).



**Figura 2.2** - Influência da aplicação de diferentes concentrações de etileno (0,1 a 1000 µg/L) na respiração de frutos climatéricos e não-climatéricos. (Fonte: Martins e Empis, 2000).



O etileno tem grandes implicações na qualidade dos produtos hortofrutícolas frescos. O seu efeito é de interesse considerável na pós-colheita, pois a sua acumulação pode alterar a taxa respiratória, mesmo em produtos que o sintetizem em pequenas concentrações, promovendo uma grande variedade de respostas fisiológicas, tais como, estimular o amadurecimento dos frutos, promover o desenvolvimento da cor nos frutos, estimular a senescência dos frutos, favorecer a abscisão dos frutos e promover a floração em bromeliáceas (Bapat et al., 2010; Silva, 2012). A produção de etileno também pode ser prejudicial, pois com a produção de etileno o amadurecimento é mais rápido, levando à senescência e a um célere apodrecimento (Toivonen e Brummell, 2008). Uma produção excessiva de etileno pode promover a destruição de clorofilas e contribuir para o amarelecimento dos tecidos de legumes como os brócolos, couve-flor ou espinafres ou a formação de manchas na alface (Asoda et al., 2009; Kader, 2013).

A inibição ou redução da biossíntese ou ação do etileno pode ajudar a prolongar o prazo de validade dos PMP, mas pode diferir com o tipo de produto (vegetativo, reprodutivo, maturidade da colheita, etc.). Existem numerosas técnicas para reduzir a produção de etileno. Tais técnicas incluem o controlo da temperatura de armazenamento, a aplicação de absorventes de etileno e a utilização de 1-metilciclopropeno (1-MCP), que se liga aos recetores do etileno impedindo, assim, que este possa exercer a sua ação (Kader, 2013).

#### 2.3.2.4. Atividade enzimática

As reações enzimáticas são uma das principais causas das alterações sensoriais, tais como, odor e sabor desagradável, alteração da cor e perda de firmeza dos HMP.

O escurecimento que normalmente ocorre nos frutos ou legumes é devido à ação da enzima polifenoloxidase (PPO; EC 1.14.18.1) que oxida os compostos fenólicos (monofenol e o-difenol), na presença de  $O_2$  (Vermeulen et al., 2018). Nesta reação desenvolvem-se quinonas, que fazem parte de reações secundárias que dão origem a metabolitos secundários de cor castanha. Comparativamente às reações não enzimáticas, a maior razão do escurecimento enzimático são as reações entre os compostos fenólicos e os iões pesados, formando complexos de cor castanha. (Ferreira, 2013).

A atividade da enzima polifenolperoxidase (POD; EC 1.11.1.7) é um indicador da deterioração da qualidade, tais como a perda de sabor e várias reações de biodegradação (Jang e Moon, 2011). A participação da POD no escurecimento enzimático ainda não é completamente conhecida, no entanto, alguns autores afirmam que poderá também contribuir para o escurecimento enzimático com a oxidação de dadores de hidrogénio na presença de peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ) (Tomás-Barberán e Espín, 2001; Degl'Innocenti et al., 2005).

O tratamento dos PMP por imersão após o corte é a maneira mais comum para controlar os fenómenos de escurecimento. Vários tipos de produtos químicos são utilizados para controlar o escurecimento, alguns atuam diretamente como inibidores de enzimas oxidativas, tais como os

agentes quelantes, enquanto outros agem tornando o meio inadequado para o desenvolvimento da reação de escurecimento, como os acidulantes. Outros produtos químicos, como os agentes redutores, reagem com os produtos da reação de PPO antes que esses produtos formem pigmentos escuros. O ácido ascórbico, o composto antioxidante mais utilizado, é uma substância redutora que reduz produtos intermediários incolores, como o-quinonas a o-difenóis e também age como um acidulante fraco (Francis et al., 2012).

O *stress* dos tecidos vegetais durante o PM também pode causar a degradação de lípidos da membrana, causando perdas de componentes lipídicos e de compartimentação celular (Montero-Calderón e Cerdas-Araya, 2011). A atividade da lipoxigenase pode promover a síntese de compostos voláteis responsáveis por aromas desejáveis ou indesejáveis (Francis et al., 2012). Esta enzima catalisa a peroxidação de ácidos gordos insaturados, que apesar de representarem uma pequena fração da composição dos produtos hortofrutícolas, leva ao desenvolvimento de aromas indesejáveis resultantes da formação de aldeídos e cetonas, contribuindo para a perda de qualidade sensorial do produto (Barrett et al., 2010). Acredita-se que o íon cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) seja capaz de estabilizar os sistemas membranares, além de manter a estrutura da parede celular das hortaliças, este tanto retarda a alteração de lípidos das membranas durante a senescência como aumenta o processo de reestruturação das membranas em cenouras MP (Moretti, 2007).

### 2.3.2.5. Alterações nutricionais

O impacto que o PM e o maior tempo de vida útil têm sobre a qualidade nutricional ainda não está bem estabelecido (Kader, 2013). No entanto, num estudo realizado por Lee e Kader (2000) verificou-se que a quantidade de ácido ascórbico diminui em alguns HMP. O teor em ácido ascórbico é também afetado pelos danos físicos provocados pelo processamento e pelo frio, por longos períodos de armazenamento, por temperaturas elevadas e por um teor de humidade baixo.

Sabe-se, também, que nem todas as cultivares respondem da mesma forma ao PM, existindo umas mais adequadas do que outras (Santos e Oliveira, 2012). Gil e colaboradores (2006) observaram que, após seis dias de armazenamento a 5 °C, as perdas de vitamina C em PMP variaram de 5 % em manga a 25 % em pedaços de melão, em comparação com os respetivos frutos inteiros. Os mesmos autores reportaram perdas de carotenóides de 25% em pedaços de ananás, seguidas por perdas de 10-15% em pedaços de melão, manga ou morango após seis dias de armazenamento a 5 ° C. Por outro lado, não foram encontradas diferenças no teor de carotenoides em fatias de kiwi ou em cubos de melancia armazenados nas mesmas condições.

### 2.3.3. Fatores ambientais

Os PMP são afetados a nível da sua qualidade por fatores ambientais. Estes fatores incluem a temperatura, a humidade relativa e a atmosfera gasosa (que será abordada mais à frente no ponto 2.5) durante o processamento, conservação e transporte do produto final (Allende et al., 2006; Barros, 2007).

#### 2.3.3.1. Temperatura

A temperatura de armazenamento é o fator externo mais importante a ser controlado para a preservação dos PMP pois, influencia a maioria das mudanças que ocorrem no interior de um fruto ou legume intacto ou minimamente processado (Kader, 2013). As taxas de alterações bioquímicas provocadas nos alimentos, quer por microrganismos, quer por enzimas, aumentam de forma logarítmica com o aumento da temperatura (Fellows, 2000). O controlo da temperatura nos níveis recomendados após a embalagem, durante a distribuição, transporte, armazenamento, comercialização, ou antes de serem consumidas é essencial para manter a qualidade e vida útil dos HMP (Sarantópoulos, 2011). Como regra geral, os PMP devem ser armazenados até um máximo de 5 °C, mas a temperatura ótima para os produtos intactos pode ser maior para hortofrutícolas sensíveis ao frio, e deve ser considerada no armazenamento antes do processamento. Apesar das temperaturas baixas reduzirem a atividade fisiológica dos PMP, o armazenamento a temperaturas mais baixas do que as toleradas pelo produto intacto pode resultar em variações físico-químicas como, por exemplo, incapacidade de amadurecimento, sabor e cor irregulares, perdas de aroma, alterações de textura e outras alterações indesejáveis (Baldwin e Bai, 2011).

No que diz respeito à perda de água, a temperatura, por norma, tem o efeito de quanto mais elevada for em torno do produto, maior é a taxa de perda de água. Quando a temperatura do ar se encontra entre os 20 e 30 °C, a taxa de respiração duplica e em algumas até triplica. Ocorre uma respiração mais rápida, uma rápida remoção de energia a partir das moléculas de açúcar e uma consequente diminuição do peso (Kader, 2011).

#### 2.3.3.2. Humidade relativa e perda de água

A humidade relativa refere-se à razão entre a pressão de vapor de água do ar e a pressão de vapor de saturação na mesma temperatura. Normalmente é expressa em percentagem, variando de 0 %, no ar seco, a 100 %, em ar completamente saturado com vapor de água (Guadarrama, 2001).

Os produtos frescos perdem água através dos cortes da pele ou da abscisão, por causa das diferenças de humidade relativa entre a atmosfera interna e aquela que cerca o produto. Por isso, os produtos frescos devem ser armazenados em ambientes com uma humidade relativa alta, como complemento à temperatura ótima de armazenamento (Montero-Calderón e Cerdas-Araya, 2011). Quanto menor o teor de humidade, maior o número de alterações que podem ocorrer, como a indução da condensação de água na superfície dos produtos, a perda de água dos tecidos vegetais, a perda de turgescência e a perda de peso em produtos hortofrutícolas. Estas alterações conduzem à diminuição de peso vendável e consequentemente, menor lucro para a empresa (Kader, 2013).

A perda de água não pode ser completamente interrompida, mas pode ser reduzida por uma correta manipulação do produto e condições adequadas de temperatura de armazenamento e humidade relativa. A temperatura deve ser tão baixa quanto o produto pode tolerar sem sintomas de lesão pelo frio, e a humidade relativa deve ser superior a 80% para a maioria dos produtos e até 95% a 100% para produtos muito sensíveis à perda de água, como vegetais folhosos e morangos (Montero-Calderón e Cerdas-Araya, 2011).

## 2.4. Microbiologia

O PM cria condições favoráveis ao desenvolvimento de microrganismos devido ao aumento da superfície exposta do produto e liberação de líquidos celulares após as operações de tratamento. Em adição, pode ocorrer contaminação cruzada durante as etapas de processamento, estes denominados de fatores extrínsecos que são provenientes de uma manipulação inadequada; contato com equipamentos, superfícies e utensílios; e pela atmosfera ambiente (Mahajan et al., 2017).

O crescimento e a sobrevivência de microrganismos são significativamente influenciados pelas propriedades intrínsecas do produto, bem como pelos fatores extrínsecos (Caleb et al., 2013). Os fatores que favorecem a multiplicação ou inibição de microrganismos são a estrutura biológica, composição de nutrientes, a atividade de água ( $a_w$ ), o pH e também, a temperatura, humidade relativa e a composição da atmosfera que envolve os alimentos (Vermeulen et al., 2018). Cada tipo de produto tem uma combinação exclusiva de características físicas e de composição e terá práticas específicas de crescimento, colheita e processamento e condições de armazenamento; o crescimento de microrganismos na produção de alimentos varia significativamente com o tipo de produto (Capozzi et al., 2009). As propriedades intrínsecas dos hortofrutícolas são quase ideais para o crescimento de microrganismos. Os hortofrutícolas frescos têm um alto teor de água e pH ácido ou ligeiramente ácido. Os PMP com pH superior a 4,6 e  $a_w$  superior a 0,85 são considerados altamente perecíveis quando não são submetidos a processos de conservação que retardam o crescimento microbiano (Soliva-Fortuny e Martín-Belloso, 2003).

Basicamente dois grupos de microrganismos estão presentes em HMP: os deteriorantes, que deterioram e degradam os alimentos, e os causadores de doenças nos consumidores, também chamados de patogénicos. Os deteriorantes podem ser bactérias, bolores e leveduras, sendo os dois últimos grupos os de maior importância. São eles que limitam a vida útil dos PMP. Entre os microrganismos patogénicos estão os vírus e, principalmente, as bactérias. Neste grupo incluem-se as bactérias *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*. Para que se possa desconsiderar possíveis danos à saúde do consumidor por patogénicos, é necessário que se avaliem todas as práticas da produção, desde o processamento, até a distribuição destes produtos (Kluge et al., 2016; Silva e Vieira, 2017).

Os fatores extrínsecos mais importantes que influenciam o crescimento microbiano em produtos frescos são a temperatura e a atmosfera (Vermeulen et al., 2018). Os microrganismos que crescem abaixo de 7 °C, mas com temperaturas ótimas entre os 20 e 30 °C são classificados como psicrotróficos; o grupo dos mesófilos cresce a temperaturas entre os 20 e 45 °C com crescimento ótimo entre os 30 e 40 °C; os microrganismos que crescem a temperaturas superiores de 45 °C com crescimento ótimo entre os 55 e 65 °C são classificados como termófilos. Os bolores são capazes de crescer sobre as temperaturas psicrotróficas (Caleb et al., 2013). Durante o armazenamento a frio os produtos estão suscetíveis ao crescimento de bactérias psicrotróficas e, concentrações baixas de O<sub>2</sub> combinado com concentrações mais altas de CO<sub>2</sub>, favorecem o crescimento de bactérias anaeróbicas facultativas e/ou estritas, como as bactérias de ácido láctico (Vermeulen et al., 2018).

A qualidade e a segurança dos PMP está totalmente ligada ao processamento do produto, o uso de embalagens corretas e o armazenamento adequado. A utilização das Boas Práticas de Fabrico e do HACCP, é importante para uma maior garantia de segurança ao consumidor. Todos os elos da cadeia produtiva devem adotar estes procedimentos, assegurando assim a qualidade e segurança do produto (Silva e Vieira, 2017).

A legislação portuguesa é omissa no que se refere a critérios microbiológicos aplicáveis à grande maioria dos produtos prontos a comer, nomeadamente aos HMP. O Regulamento nº 1441/2007, relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios, indica para frutas e produtos hortícolas pré-cortados (prontos para consumo os HMP) apenas a pesquisa de *Salmonella*, como indicador de segurança, e de *Escherichia coli* como indicador de higiene. O mesmo Regulamento indica ainda valores para a contaminação com *L. monocytogenes* em alimentos prontos para consumo suscetíveis de permitir o crescimento desta bactéria, onde se podem incluir os HMP.

Devido a esta falta de legislação específica o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) elaborou e publicou em 2005 Valores Guia para a apreciação dos resultados de análises microbiológicas quantitativas e qualitativas em alimentos prontos a consumir (Santos et al., 2005). Estes Valores Guia estabelecem limites a partir dos quais as determinações microbiológicas quantitativas e qualitativas permitem qualificar o produto segundo níveis de qualidade/segurança e englobam um maior número de parâmetros (Santos, 2005). Assim os Valores Guia elaborados pelo INSA indicam valores para microrganismos a 30 °C, bolores, leveduras, coliformes totais, *E. coli*, *Listeria* spp., anaeróbios sulfito redutores, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* spp., *Vibrio parahaemolyticus* e *Yersinia enterocolitica*.

## 2.5. Embalagem

Na etapa final, os PMP devem ser embalados, podendo ser utilizados materiais flexíveis ou rígidos, desde que os produtos fiquem perfeitamente recobertos. Para que não haja contaminação do produto, lesão mecânica ou qualquer outro tipo de dano no alimento, as embalagens devem possuir elevada resistência à perfuração e tensão, e devem também facilitar a impressão de rótulos e marcas. A embalagem deve ainda apresentar selabilidade térmica a baixas temperaturas (Silva e Vieira, 2017). A não utilização da embalagem nos PMP pode ocasionar a degradação de nutrientes, principalmente de vitaminas, provocada por oxidação (Nascimento et al., 2014).

Uma técnica muito utilizada é a embalagem com atmosfera modificada (ATM), que consiste em substituir o ar no interior da embalagem por uma mistura de gases. Os principais gases utilizados na ATM são o  $\text{CO}_2$ , o  $\text{O}_2$  e o  $\text{N}_2$  (Silva e Vieira, 2017).

Por ter um efeito bacteriostático e fungistático o  $\text{CO}_2$  é considerado como o principal elemento das embalagens com ATM. Este gás consegue inibir o crescimento de muitas bactérias responsáveis pela degradação do produto, aumentando o efeito inibidor com a concentração. O  $\text{N}_2$  é um gás inerte e sem sabor, utilizado na ATM para preencher o espaço livre da embalagem, por causa da sua baixa solubilidade em água. Este gás não é absorvido pelo produto, prevenindo assim o colapso da embalagem devido à dissolução do  $\text{CO}_2$ . O  $\text{N}_2$  é também utilizado para remover o  $\text{O}_2$  em embalagens de produtos sensíveis à oxidação, como alternativa à embalagem a vácuo (Santos e Oliveira, 2012).

O  $\text{O}_2$  é um gás reativo, ligeiramente solúvel em água sendo que a sua solubilidade aumenta com a diminuição da temperatura. A maioria das reações com participação do  $\text{O}_2$  são de degradação (por exemplo, a oxidação), o que faz com que normalmente se evite a sua utilização. Contudo, este é necessário para a respiração dos hortofrutícolas, para manter a cor nas carnes vermelhas e, também, para reduzir a perda de líquidos nas embalagens de peixes magros (Santos e Oliveira, 2012), a sua presença também é fundamental para a inibição do crescimento de microrganismos patogénicos estritamente aeróbios (Ferreira, 2013). O tipo de atmosfera utilizada difere de alimento para alimento, dependendo de vários fatores, como o tipo de alimento, da permeabilidade do material da embalagem, da atividade microbológica, taxas de respiração dos alimentos e o principal mecanismo de deterioração do alimento (Mantilla, et al., 2010; Fellows, 2000).

Para a embalagem dos HMP são normalmente usados materiais poliméricos flexíveis. Os materiais mais comuns são o polietileno (PE) e o polipropileno (PP) isoladamente ou sob a forma de co-polímeros diversos. Alimentos que não respiram, como produtos cárneos, devem ser embalados com películas de baixa permeabilidade aos gases, enquanto os que respiram, como os hortofrutícolas, devem ser embalados com películas que possibilitem a troca gasosa (Mantilla, et al., 2010). Assim, a película mais adequada para uma ATM é uma película semipermeável que permita atingir um equilíbrio dinâmico entre as concentrações do  $\text{CO}_2$  e do  $\text{O}_2$ , de modo a que o  $\text{CO}_2$  libertado se difunda para o exterior e o  $\text{O}_2$  atmosférico entre para o interior da embalagem (Martins e Empis, 2000).

Tecnicamente, a modificação da atmosfera à volta do produto pode ser estabelecida por via passiva, ativa, ou pela combinação de ambas (Nascimento et al., 2014).

No armazenamento sob ATM passiva, o produto é embalado com ar normal sendo a embalagem selada com uma película permeável. A atmosfera no interior da embalagem vai alterar-se devido à respiração do produto (consumo de  $O_2$  e produção de  $CO_2$ ) (Santos e Oliveira, 2012). Após um período transitório, a pressão parcial do gás no topo da embalagem atinge um estado estável enquanto as trocas difusivas através da película compensam a produção ou consumo de gás ou vapor. Este processo é chamado de equilíbrio ATM. A permeabilidade da película vai permitir que se estabeleça um equilíbrio entre o ambiente externo e interno conseguindo, desse modo, manter a qualidade do produto durante mais alguns dias (Vermeulen et al., 2018). O equilíbrio ATM deve ocorrer o mais rápido possível após o empacotamento dos produtos e deve estar próximo da atmosfera recomendada para preservar a qualidade e a segurança do produto embalado (Guillaume et al., 2011).

No caso da ATM ativa, é colocada no interior da embalagem, antes da selagem, uma mistura de gases de concentração conhecida e o sistema irá manter as concentrações de gases desejadas devido à interação entre a respiração do produto e as trocas gasosas através do material de embalagem. A mistura é escolhida de acordo com o produto e com a película da embalagem, de modo a controlar a taxa de respiração dos produtos, manter as características de qualidade e retardar o desenvolvimento dos microrganismos responsáveis pela degradação (Santos e Oliveira, 2012). A vantagem deste sistema é que a atmosfera de equilíbrio é atingida mais rapidamente, o que mantém a qualidade inicial do produto por mais tempo (Sarantópoulos, 2011).

Nos dois tipos de armazenamento, as concentrações dos gases não são controladas e variam com o tempo, temperatura, taxa de permeabilidade da película, taxa respiratória e características de difusão do produto (Nascimento et al., 2014).

A redução de  $O_2$  e/ou o aumento da concentração de  $CO_2$  da atmosfera em contato com hortaliças inteiras ou minimamente processadas podem diminuir as suas taxas respiratórias e a produção de etileno. A combinação da ATM com o uso de baixas temperaturas pode prolongar a vida útil dos HMP, por reduzir a transpiração, a taxa de respiração e de produção de etileno, o crescimento microbiano, podendo haver inibição ou diminuição das reações enzimáticas, redução das desordens fisiológicas e das alterações metabólicas que resultam em deterioração pós-colheita (Martins e Empis, 2000, Nascimento et al., 2014).

Encontrar as concentrações ótimas de  $O_2$  para os HMP é bastante desafiante, pois depende do tipo de produto hortofrutícola, nomeadamente da respetiva taxa respiratória, da sua tolerância a níveis baixos de  $O_2$ , bem como da temperatura e do tempo de exposição às baixas concentrações de  $O_2$ . É necessário encontrar um consenso entre a aplicação de baixa concentração de  $O_2$  para diminuir eficientemente a taxa de respiração sem aplicar concentrações de  $O_2$  muito baixas que possam induzir fermentações anaeróbicas (Vermeulen et al., 2018).



No que respeita à concentração de CO<sub>2</sub>, a modificação da atmosfera passa sempre pela elevação da mesma, verificando-se um efeito pronunciado quer a nível do metabolismo do próprio vegetal, quer a nível microbiano. Concentrações de CO<sub>2</sub> superiores a 10 % inibem o crescimento de muitos dos microrganismos responsáveis pela deterioração dos vegetais (Martins e Empis, 2000).

Atendendo às diferenças existentes entre os vegetais, são recomendadas atmosferas modificadas com diferentes composições consoante o tipo de vegetal a preservar (tabela 2.5).

**Tabela 2. 5 - Exemplos de composição de atmosfera recomendada para produtos hortofrutícolas.**  
(Adaptado de Martins e Empis, 2000).

Vegetal	Temperatura (°C)	O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)
Alface	0-5	2-5	0
Cenoura	0-5	5	3-4
Couve	0-5	3-5	5-7
Couve-flor	0-5	2-5	2-5
Aipo	0-5	2-4	0
Cebola	0-5	1-2	10-20
Espinafre	0-5	21	10-20
Brócolo	0-5	1-2	5-7
Tomate semi-maduro	8-12	3-5	0-5
Morango	0-5	10	15-20
Pêssego	5-13	2-5	3-10

Por norma, pode afirmar-se que os frutos exigem atmosferas com menos de 10 % de O<sub>2</sub> e menos de 10 % de CO<sub>2</sub>. Os produtos hortícolas que apresentem taxas respiratórias muito elevadas conservam-se bem sob atmosferas pobres em O<sub>2</sub> (menos de 5 %) e enriquecidas em CO<sub>2</sub> (mais de 10 %) (Martins e Empis, 2000). De qualquer forma, a atmosfera escolhida e o sistema de embalagem final devem ser testados, pois algumas concentrações de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> podem acelerar o processo de deterioração, ao invés de conservar os vegetais (Sarantópoulos, 2011).

A ATM apesar de constituir uma alternativa ideal para o aumento de vida útil dos produtos também pode estar associada ao aparecimento de alguns efeitos negativos, como ilustra a tabela 2.6.

**Tabela 2. 6- Vantagens e desvantagens da utilização da embalagem com ATM (adaptado de Santos e Oliveira, 2012).**

Vantagens	Desvantagens
Aumento do tempo de prateleira (50-500%)	Custos adicionais
Redução de perdas económicas	Controlo da temperatura obrigatório
Produto de melhor qualidade	Composição do gás diferente para cada tipo de alimento
Menor adição de conservantes químicos	Necessidade de equipamento específico e operadores treinados
Melhor separação de produtos cortados	Maior volume das embalagens
Melhor apresentação dos produtos	Perda de benefícios após abertura da embalagem

---

Embalagens seladas, barreiras contra a  
contaminação e perda de líquidos  
Embalagem prática e sem cheiro

---

A dissolução de CO<sub>2</sub> leva à acidificação  
do meio e ao colapso da embalagem

## 2.6. Qualidade e Segurança Alimentar nos produtos hortofrutícolas

Um dos grandes desafios das empresas da cadeia dos PMP é garantir a segurança dos seus produtos de acordo com os requisitos necessários, desde a produção da matéria-prima (no campo), passando pelo processamento, pela armazenagem e pelo transporte, até à sua distribuição e comercialização. A tecnologia dos PMP favorece a deterioração microbiológica, alterações fisiológicas e bioquímicas dos vegetais e aumenta os riscos de desenvolvimento de microrganismos patogénicos, levando a possíveis problemas de segurança no consumo destes produtos (Sarantópoulos, 2011). Torna-se, então, importante, estabelecer alguns fundamentos sobre a qualidade e a segurança dos HMP e sobre a forma de os garantir. Apesar de estarem relacionadas, a qualidade e a segurança são termos que englobam conceitos distintos, sendo frequentemente confundidos (Sarantópoulos, 2011; FAO, 2013).

### 2.6.1. Qualidade Alimentar

A norma ISO 9000:2005 define Qualidade como “Grau de satisfação de requisitos dados por um conjunto de características intrínsecas” e Requisito como “Necessidade ou expectativa expressa, geralmente implícita ou obrigatória”.

Para os consumidores, a qualidade é um conceito subjetivo, sendo o mais importante, o aspeto, a frescura e a textura que o produto apresenta no momento da compra e posteriormente as características organolépticas (sabor e aroma), nutricionais e higio-sanitárias (Veiga et al., 2012).

Um programa de garantia de qualidade bem desenvolvido deve garantir que somente o produto de melhor qualidade saia da fábrica (FAO, 2011). O controlo de qualidade garante que as matérias-primas e os produtos acabados sejam manuseados, armazenados, processados ou embalados de acordo com os padrões de qualidade exigidos. O propósito fundamental de um programa de garantia de qualidade é ter informações oportunas e confiáveis sobre todos os atributos de um produto que afetam sua qualidade. As funções básicas de um programa de garantia de qualidade incluem:

- Avaliação física, química e sensorial das matérias-primas e dos PMP;
- Controlo no processo de matérias-primas e PMP:
  - Matérias-primas, ingredientes e suprimentos de embalagem
  - Parâmetros de processamento
  - Produtos acabados

- Análise microbiológica e controlo das matérias-primas e produtos acabados;
- Controlo das condições de armazenamento e manuseio;
- Controlo do saneamento e resíduos;
- Garantia de que os produtos finais estão dentro dos padrões legais e de marketing estabelecidos.

A qualidade do produto pode ser mantida em toda a cadeia de fornecimento através da aplicação de boas práticas. Os métodos para medir cada parâmetro de qualidade devem ser claramente delineados, por exemplo, equipamentos e procedimentos de teste. A equipa deve ser designada para monitorizar a qualidade e registar os resultados das verificações de qualidade nas folhas de registo diárias. A empresa deve verificar as folhas de registo diário para garantir que apenas os produtos que atendem às especificações sejam embalados.

A avaliação de qualidade da matéria-prima pode incluir:

- Medição do teor de açúcar (grau Brix);
- Medição do pH e teor de ácidos orgânicos;
- Teste de pressão para avaliar a suavidade;
- Medição da cor na colheita;
- Observação por defeitos;
- Verificação de que o formato do produto é ideal para processamento.

As medições de qualidade em processo incluem medições para garantir:

- Tamanho de peças minimamente cortadas dentro da especificação;
- Produtos misturados nas proporções corretas, se aplicável;
- Produtos livres de excesso de água;
- A temperatura ótima para o produto de modo a promover a qualidade do produto (medir e registar a temperatura no processo).

Medições de qualidade do produto acabado incluem a avaliação de:

- Integridade de embalagem;
- Peso médio das embalagens;
- Impressão de etiquetas;
- Datas de produção corretas no rótulo;
- Temperatura da embalagem adequada para manter a qualidade (FAO, 2011).

## 2.6.2. Segurança Alimentar

O conceito de Segurança Alimentar tem vindo a evoluir ao longo do tempo e, atualmente refere-se a todos os perigos que podem tornar o alimento prejudicial para a saúde do consumidor, estando relacionada com a *food safety* (FAO, 2013). A norma ISO 22000:2005 define Segurança alimentar como “Conceito de que um género alimentício não causará danos ao consumidor quando preparado e/ou ingerido de acordo com a utilização prevista” (ISO 22000:2005). Ou seja, a segurança dos alimentos significa garantir a ausência de perigos químicos, físicos e microbiológicos no alimento destinado ao consumo humano (Sarantópoulos, 2011).

Os perigos químicos podem estar presentes desde a matéria-prima (como por exemplo: pesticidas, medicamentos veterinários, metais pesados, alergénios) ou podem ser introduzidos durante a manipulação do produto (como por exemplo: lubrificantes, agentes químicos utilizados na higienização das superfícies, equipamentos e utensílios) (CAC, 2003).

Os perigos físicos, embora em menor escala, também podem ocorrer, sendo resultado de objetos estranhos como pedras, peças metálicas, vidros e terra. A produção da maioria dos hortofrutícolas envolve atividades de pré-colheita e pós-colheita, como a preparação do campo, plantação, crescimento, rega, fertilização, colheita, processamento, armazenamento e transporte. No entanto, as práticas de produção variam dependendo do produto, e por isso os produtores necessitam de avaliar as práticas agrícolas para cada área de produção primária específica, de forma a garantir a produção de hortofrutícolas seguros (Veiga et al., 2012).

Os produtos hortofrutícolas têm diferentes morfologias e funções metabólicas e, consequentemente, proporcionam diversos nichos ecológicos para os microrganismos. A presença e o número de microrganismos variam consoante o tipo de produto, práticas agrícolas, área geográfica de produção e condições meteorológicas antes da colheita (Ramos et al., 2013).

A implementação da Segurança Alimentar envolve uma complexa mistura de leis, normas e boas práticas, envolvendo Governos, Organizações Internacionais, Organizações de Indústrias, Agências de Investigação, Organismos de Independentes e Organismos de Certificação Independentes (Rentokil, 2016).

### 2.6.1.1. HACCP

O HACCP é uma sigla internacionalmente reconhecida para *Hazard Analysis and Critical Control Point* e é um sistema que tem como base uma metodologia preventiva que tem como finalidade a produção de alimentos não prejudiciais para a saúde humana, evitando potenciais riscos que possam causar danos aos consumidores, através da eliminação ou redução de perigos, de forma a garantir que não estejam colocados, à disposição do consumidor, alimentos não seguros (Mil-Homens, 2007).

A implementação do sistema HACCP, de acordo com a metodologia definida no *Codex Alimentarius*, é uma forma de dar resposta aos requisitos legais instituídos no Regulamento (CE) nº 852/2004. De acordo com essa metodologia a implementação de um sistema de HACCP implica a realização de um conjunto de etapas preliminares e dos sete princípios do HACCP.

Antes da aplicação do HACCP, devem estar estabelecidos, de forma sólida, programas de pré-requisitos, isto é, procedimentos necessários antes e durante a implementação do Sistema HACCP, que controlam as condições operacionais dentro da indústria alimentar e que asseguram condições favoráveis à obtenção de um alimento seguro (CAC, 2003).

Segundo o Regulamento (CE) nº 852/2004, que incorpora os princípios gerais de higiene alimentar recomendados pelo *Codex Alimentarius*, os pré-requisitos são relativos a:

- Instalações;
- Locais em que os géneros alimentícios são preparados, tratados ou transformados;
- Transporte;
- Equipamentos;
- Resíduos alimentares;
- Abastecimento de água;
- Higiene pessoal;
- Disposições aplicáveis aos géneros alimentícios;
- Disposições aplicáveis ao acondicionamento e embalagem de géneros alimentícios;
- Tratamento térmico.

Na verificação do cumprimento dos pré-requisitos recorre-se a listas de verificação (*checklists*) elaboradas de modo a permitir avaliar o nível de conformidade com as exigências regulamentares.

A implementação do sistema HACCP baseia-se nos seguintes sete princípios:

1. Identificar quaisquer perigos (químicos, físicos ou microbiológicos) que devam ser evitados, eliminados ou reduzidos para níveis aceitáveis, propor as respetivas medidas preventivas e efetuar a sua classificação quanto à probabilidade e severidade
2. Identificar os pontos críticos de controlo (PCC) na fase ou fases em que o controlo é essencial para evitar ou eliminar um risco ou para reduzir para níveis aceitáveis.
3. Estabelecer limites críticos em pontos críticos de controlo, que separem a aceitabilidade da não aceitabilidade com vista à prevenção, eliminação ou redução dos riscos identificados
4. Estabelecer e aplicar processos eficazes de vigilância em pontos críticos de controlo
5. Estabelecer medidas corretivas quando a vigilância indicar que um ponto crítico não se encontra sob controlo
6. Estabelecer processos, a efetuar regularmente, para verificar que as medidas referidas nos princípios de 1 a 5 funcionam eficazmente
7. Elaboração de documentos e registos adequados à natureza e dimensão das empresas, a fim de demonstrar a aplicação eficaz das medidas referidas nos princípios 1 a 6 (Mil-Homens, 2007).

Um Sistema de Segurança Alimentar traduzido num plano HACCP representa pois, uma importante ferramenta no processo de gestão do sistema de segurança alimentar de uma agro-indústria.

### 2.6.1.2. Normas para Certificação de um Sistema de Segurança Alimentar

Em 1993, a União Europeia emitiu a Directiva 93/43/CEE, referente à higiene dos produtos alimentares, de acordo com a qual as empresas de alimentos foram obrigadas a implementar sistemas de autocontrolo baseado no modelo de HACCP, como um sistema de prevenção para a segurança alimentar. No entanto, por causa das crises alimentares que ocorreram na Europa na década de 1990, os consumidores perderam a confiança nos produtos alimentares. O Livro Branco da Segurança Alimentar, publicado em janeiro de 2000, estabeleceu as bases de um novo sistema de regulamentação quanto a este assunto, que se tornou aplicável através dos seguintes regulamentos:

- Directiva 95/2001, referente à segurança geral dos produtos
- Regulamento 178/2002: legislação alimentar princípios e normas gerais bem como a criação da Autoridade Europeia de Segurança Alimentar e o estabelecimento dos procedimentos relacionados com a segurança alimentar;
- Higiene:
  - Regulamento 852/2004, referente à higiene dos produtos alimentares;
  - Regulamento 853/2004, com os requisitos específicos para a higiene dos produtos alimentares de origem animal;
  - Regulamento 854/2004, que estabeleceu requisitos específicos para a gestão e controlo oficial de produtos alimentares destinados ao consumo humano;
- Regulamento 2073/2005, com critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios.

Os primeiros sistemas de certificação da segurança alimentar surgiram em 1997 (Garrido, 2011). Estes sistemas incluem diversas normas de que se podem destacar a norma do *British Retail Consortium* (BRC – *Global Standard for Food Safety*, Reino Unido, 1ª versão 1998); Norma *International Featured Standards* (IFS, França – Alemanha, 1ª versão 2002) pela *International Organization for Standardization* (ISO22000).

A Certificação de um Sistema de Segurança Alimentar não é obrigatória mas traz valor acrescentado por proporcionar os critérios para a estruturação, implementação e funcionamento do sistema de gestão, algo que carece da legislação nacional e europeia aplicável, por ser de carácter geral; uniformizar critérios entre países, o que possibilita que se fale a mesma linguagem, eliminando barreiras à comercialização de produtos por problemas técnicos relativos a falta de higiene ou de segurança alimentar; proporcionar elementos de organização que permitam gerir a segurança alimentar de forma eficaz; permitir reconquistar a confiança dos consumidores através de uma gestão eficaz dos perigos associados aos diferentes processos produtivos; e poder ser comunicado a todos os elos da cadeia alimentar, incluindo o consumidor, em consequência da gestão eficaz do sistema (Garrido, 2011).





### 3. Metodologia

Este estudo incidiu sobre sete tipos de produtos IV Gama produzidos pela empresa : Salada Ibéria, Salada Camponesa, Salada Iceberg, Rúcula Selvagem, Espinafre *Baby*, Sopa Portuguesa e Caldo Verde. Para todos estes produtos foi avaliada a possibilidade de extensão do prazo de validade e o comportamento dos produtos quando armazenados a diferentes temperaturas de refrigeração. Para tal foi necessário efetuar uma avaliação da qualidade organolética e/ou microbiológica dos diferentes PMP. O estudo teve início no mês de Março e terminou no mês de Maio de 2018, tendo sido analisadas um total de 180 amostras de produtos IV Gama (30 amostras de cada produto).

#### 3.1. Recolha de amostras

Para a avaliação microbiológica, foram recolhidas 20 embalagens de cada produto. Em cada embalagem foi colocada uma etiqueta com a identificação do dia a realizar a análise microbiológica e, a temperatura a que o produto deveria ser conservado para posterior avaliação. De seguida, as embalagens de produtos IV Gama foram colocadas numa mala auto-refrigerada que garantiu, durante o transporte ao laboratório, uma temperatura de 0 a 4 °C. As amostras foram recolhidas no mesmo dia de produção, sendo que, a análise microbiológica de cada produto teve início no primeiro dia de vida útil. Para a avaliação organolética, foram adquiridas 10 embalagens de cada produto. Estas permaneceram armazenadas na sala de *picking*, a uma temperatura de 1 a 4 °C e a avaliação foi efetuada nos mesmos dias da avaliação microbiológica.

#### 3.2. Controlo organolético

Os produtos para avaliação organolética foram armazenados à temperatura de 1 a 4 °C e avaliados no 1º, 6º, 8º, 9º e 10º dia de vida útil do produto. Em cada dia utilizaram-se amostras provenientes de duas embalagens diferentes de cada produto a analisar. Para este controlo as amostras foram avaliadas visualmente em relação ao seu aspeto geral (grau de oxidação dos tecidos; capacidade de perda ou retenção de água), cheiro, cor e textura. Os diferentes atributos foram Classificados como Conforme ou Não Conforme. Esta classificação foi atribuída por comparação das diversas características com produtos do dia e com a informação das fichas técnicas da matéria-prima.

### 3.3. Controlo microbiológico

Para a avaliação e extensão de vida útil de cada produto, as análises microbiológicas foram realizadas ao 1º, 6º, 8º, 9º e 10º dia de vida útil do produto. Para o estudo do comportamento do produto a diferentes temperaturas, estes foram conservados às temperaturas de 1 a 4°C, 4 a 6°C e 6 a 8°C e a avaliação microbiológica foi realizada no 1º, 6º, 8º, 9º e 10º dia. Para os produtos armazenados à temperatura de 1 a 4 °C as análises foram sempre efetuadas a partir de amostras provenientes de duas embalagens diferentes de cada produto, sendo que, para os produtos armazenados às restantes temperaturas, as amostras analisadas foram provenientes de uma única embalagem. Para cada amostra foram analisados os seguintes parâmetros: Enumeração de microrganismos totais a 30°C, enumeração de bolores e leveduras a 25 °C, enumeração de *Escherichia coli*, enumeração de *Staphylococcus* coagulase positiva, pesquisa de *Salmonella* spp. e pesquisa de *Listeria monocytogenes*.

Os resultados obtidos foram confrontados com os limites estabelecidos pelo Regulamento nº 1441/2007 para *E. coli* e *Salmonella* spp. em frutas e produtos hortícolas pré-cortados, com os Valores Guia para microrganismos totais para hortofrutícolas embalados em atmosfera modificada ou a vácuo estabelecidos pela *Health Protection Agency*, do Reino Unido (HPA, 2009) e com os Valores Guia para avaliação da qualidade de saladas, vegetais e frutos crus indicados pelo Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (Santos, 2005) para bolores, leveduras *Staphylococcus* coagulase positiva e *L. monocytogenes* (Santos, 2005) (Tabela 3.1).

**Tabela 3.1-** Valores utilizados para avaliação da qualidade microbiológica dos produtos em análise.

Microrganismos	Qualidade Microbiológica (ufc/g quando não indicado)			
	Satisfatório	Aceitável	Não Satisfatório	Inaceitável/ potencialmente perigoso
<b>Microrganismos a 30°C<sup>1</sup></b>	$\leq 10^6$	$> 10^6 < 10^8$	$\geq 10^8$	-
<b>Leveduras<sup>2</sup></b>	$\leq 10^2$	$> 10^2 \leq 10^5$	$> 10^5$	-
<b>Bolores<sup>2</sup></b>	$\leq 10^2$	$> 10^2 \leq 10^3$	$> 10^3$	-
<b><i>E. coli</i><sup>3</sup></b>	$\leq 10^2$	$> 10^2 < 10^3$	$\geq 10^3$	-
<b><i>Staphylococcus</i> coagulase positiva<sup>2</sup></b>	$< 10^2$	-	$\geq 10^2 \leq 10^4$	$> 10^4$
<b><i>Salmonella</i> spp.<sup>3</sup></b>	Ausente em 25 g	-	-	Presente em 25 g
<b><i>Listeria monocytogenes</i><sup>2</sup></b>	Ausente em 25 g	-	-	Presente em 25 g

<sup>1)</sup> HPA, 2009; <sup>2)</sup> Santos, 2005; <sup>3)</sup> Regulamento nº 1441/2007; -) Sem valor estipulado.

### 3.3.1. Enumeração de microrganismos a 30 °C

A enumeração de microrganismos a 30 °C foi realizada de acordo com a Norma ISO 4833-1:2013. Esta determinação envolve a sementeira por incorporação em meio de cultura *Plate Count Agar*, seguida de incubação em estufa a 30 °C  $\pm$  1 °C, durante 72 horas, em aerobiose. No final do período de incubação procedeu-se à leitura que corresponde à contagem de todas as colónias formadas nas placas. A contagem microbiológica expressou-se em unidades formadoras de colónias por grama (ufc/g).

### 3.3.2. Enumeração de bolores e leveduras

A enumeração de bolores e leveduras a 25 °C foi realizada de acordo com a Norma ISO 21527-1:2008. Esta determinação envolve a inoculação por espalhamento em superfície em meio de cultura *Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol Agar*, seguida de incubação em estufa a 25 °C  $\pm$  1 °C, durante 120 horas, em aerobiose. No final do período de incubação procedeu-se à leitura das colónias de bolores e leveduras que foram contadas separadamente de acordo com a sua morfologia. As leveduras formam colónias pequenas com bordos definidos, coloração rosa-tostado a azul esverdeado, geralmente não apresentam um foco (centro negro) no centro da colónia. Os bolores formam colónias grandes e planas em que a cor é variável (os bolores podem produzir seus próprios pigmentos) e geralmente apresentam um foco negro no centro da colónia. A contagem microbiológica expressou-se em unidades formadoras de colónias por grama (ufc/g).

### 3.3.3. Enumeração de *E. coli*

A enumeração de *E. coli* foi feita realizada de acordo com a Norma ISO 16649-2:2001. Este método implica a inoculação por incorporação em meio cromogénico Triptona-Bílis X-glucurónico Agar (TBX Agar), seguida de incubação 44 °C  $\pm$  1 °C durante 24 horas. O meio TBX é um meio cromogénico seletivo para *E. coli*, que contém sais biliares, que inibem o crescimento das bactérias gram-positivas, e promove a recuperação de *E. coli*. Este meio contém, igualmente 5-bromo-4-cloro-indolil- $\beta$ -D-ácido glucurónico (BCIG), que quando hidrolisado pela enzima  $\beta$ -D-glucoronidase, origina um composto azul. Geralmente, as estirpes de *E. coli* diferenciam-se da maior parte da flora envolvente por possuírem a atividade da enzima  $\beta$ -D-glucuronidase. Assim, quando a *E. coli* cresce no meio TBX origina o aparecimento de colónias azuis. Assim, no final do período de incubação contaram-se as colónias azuis (colónias típicas de *E. coli*), tendo os resultados sido expressos em ufc/g de amostra.

### 3.3.4. Enumeração de *Staphylococcus coagulase positiva*

A determinação do número total de colónias de bactérias *Staphylococcus coagulase positiva* foi efetuada de acordo com a Norma ISO 6888-2:1999. Esta norma implica o plaqueamento em meio Baird Parker suplementado com plasma de coelho e fibrinogénio, seguido de incubação durante 24 horas a  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Após o período de incubação realizou-se a contagem das colónias pretas ou cinzentas rodeadas por um halo de precipitação (colónias típicas) características de *Staphylococcus coagulase positiva*. Os resultados foram expressos em ufc/g de amostra.

### 3.3.5. Pesquisa de *Salmonella* spp.

A pesquisa de *Salmonella* foi realizada de acordo com o método Rapid' *Salmonella* AFNOR BRD07/11-12/0. O meio *RAPID'Salmonella* é um meio cromogénico usado para a deteção de *Salmonella* spp. em todos os produtos alimentares para consumo humano, animal e em amostras ambientais. A pesquisa de *Salmonella* é efetuada em quatro fases:

#### a) Pré-enriquecimento:

Para a preparação da suspensão-mãe utilizou-se como diluente o meio pré-enriquecimento, água peptonada tamponada (APT). Depois de inoculada a amostra à temperatura ambiente, colocou-se na estufa à temperatura de  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante  $18 \pm 2$  h.

#### b) Enriquecimento seletivo:

Transferiu-se 0,5 mL da cultura pré-enriquecida para um tubo com 10 mL do meio *Rappaport-Vassiliadis Soya* (RVS), que foi incubado em banho a  $41,5\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas.

#### c) Isolamento e identificação:

Da cultura do enriquecimento seletivo, transferiram-se 100 µL para placas de *RAPID'Salmonella* Agar, tendo as placas sido incubadas a  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas. Repetiu-se o procedimento de isolamento ao fim de mais 24 horas. Terminados os tempos de incubação, selecionaram-se as colónias características (cor rosa a violeta).

#### d) Confirmação:

Na fase de confirmação, as colónias com a morfologia característica transferidas para tubos com meio de cultura *Triple Sugar Iron* (TSI). De seguida, incubou-se a  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ , durante 24 horas. As colónias típicas de *Salmonella* no meio de TSI apresentam um fundo ácido (amarelo) com formação de gás, e uma rampa alcalina (vermelho escuro), com enegrecimento total ou parcial devido à produção de sulfeto de hidrogénio ( $\text{H}_2\text{S}$ ). O resultado foi expresso em presença ou ausência de *Salmonella* spp. em 25 g.

### 3.3.6. Detecção e numeração de *Listeria monocytogenes*

Este procedimento foi efetuado de acordo com a Norma ISO11290-1: 2017, podendo ser dividido em cinco passos

#### a) Enriquecimento primário:

A suspensão-mãe foi preparada em seletivo primário Half-Fraser e incubada a  $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ , durante  $24 \pm 2$  horas.

#### b) Enriquecimento secundário:

Após incubação da suspensão inicial, transferiu-se 0,1 mL da cultura obtida (independentemente da cor) para uma placa com meio *COMPASS'Listeria*, que foi incubado a  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ , por um período de  $48 \pm 2$  h.

#### c) Isolamento e identificação:

Da suspensão-mãe (enriquecimento primário) e do enriquecimento secundário, retirou-se uma pequena porção e inoculou-se em meio OCLA (Agar *Listeria* according to Ottaviani and Agosti) e em meio Palcam. Ambos os meios foram incubados na estufa a  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ , durante  $24 \pm 3$  h. As placas foram examinadas, na ausência de colónias ou na presença de um fraco crescimento foram re-incubadas à mesma temperatura durante mais  $24 \pm 3$  h.

No meio OCLA as colónias típicas de *Listeria monocytogenes* apresentam uma coloração azul esverdeada rodeadas por um halo opaco e no meio Palcam uma coloração verde sem halo.

#### d) Confirmação de *Listeria* spp.

Para confirmação, escolheu-se de cada meio seletivo, pelo menos cinco colónias presuntivas para *Listeria* spp. Fez-se um riscado em meio *tryptone soya yeast extract agar* (TSYEA) de forma a obter colónias bem isoladas. As placas foram incubadas a  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  por um período de 24h. As colónias típicas apresentam diâmetro de 1 – 2 mm, são convexas e incolores com um halo opaco.

Foi realizado o teste da Catalase, para tal, colocou-se uma gota de reagente de catalase sobre as colónias características, emulsionando suavemente. Se houver formação imediata de bolhas de gás é indicação de uma reação positiva.

#### e) Confirmação de *Listeria monocytogenes*:

Sempre que as colónias apresentaram características morfológicas e fisiológicas de *Listeria monocytogenes*, procedeu-se ao teste da hemólise. Para tal, repicou-se uma colónia bem isolada do meio OCLA ou Palcam e procedeu-se ao riscado em meio columbia 5% sangue de carneiro, que foi incubada a  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  por um período de  $24 \pm 2$ h. Após incubação, examinaram-se as placas e verificou-se se havia reação hemolítica. Na presença de *Listeria monocytogenes* o meio colúmbia 5% sangue de carneiro apresenta zonas claras e estreitas. Foi usado o teste de confirmação bioquímica *RAPID'L.mono*. Este teste só funciona para colónias isoladas provenientes do meio de cultura OCLA. Desta forma, e sempre que a reação hemolítica foi positiva, procedeu-se à inoculação da galeria

como indicado pelo fornecedor. O resultado é expresso em presença ou ausência de *Listeria monocytogenes* em 25 g.

## 4. Resultados e Discussão

Os resultados e discussão estão apresentados por lote de produção, uma vez que a recolha de amostras foi efetuada a diferentes dias. Em primeiro lugar estão apresentados os resultados e discussão do estudo da avaliação da possibilidade de extensão do prazo de validade dos produtos IV Gama, em segundo lugar estão apresentados os resultados e discussão do comportamento desses mesmos produtos a diferentes temperaturas de refrigeração. Para ambos os estudos, e para todos os produtos avaliados nos diferentes tempos e conservados às diferentes temperaturas, não foi detetada a presença de *Salmonella* spp. (ausente em 25 g) nem de *L. monocytogenes* (ausente em 25 g).

### 4.1. Avaliação da possibilidade de extensão do tempo de vida útil dos produtos IV Gama armazenados a uma temperatura de 1 a 4 °C

#### 4.1.1. Salada Ibérica e Espinafre *Baby*

A Salada Ibérica (Tabela 1.1) e o Espinafre *Baby* analisados foram produzidos no dia 13/03/2018 e pertencem ao lote de produção L1, estes produtos foram avaliados nos dias 14, 19, 21, 22 e 23 de março de 2018 (1º, 6º, 8º, 9º e 10º dia).

##### 4.1.1.1. Controlo organolético

A tabela 4.1 apresenta os resultados do controlo organolético da Salada Ibérica nos tempos determinados. Verificou-se que até ao 9º dia de tempo de vida útil, não houve anomalias em termos do aspeto, cheiro, cor e textura dos componentes. A partir do 10º dia observou-se uma ligeira perda de textura da rúcula e das alfaces frisadas *baby leaf* verde e roxa, apresentando ambos os componentes oxidação na zona de corte. Apesar do aspeto e o cheiro se terem mantido conformes durante o período do estudo, a cor e a textura são propriedades que definem a qualidade de um produto, tornando este produto não conforme ao 10º dia.

**Tabela 4. 1 - Resultados do controlo organolético, nos tempos estipulados, da Salada Ibérica.**

Tempo (dias)	Aspeto	Cheiro	Cor	Textura
1	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
6	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
8	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
9	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
10	Conforme	Conforme	Não conforme	Não conforme

O Espinafre *Baby* apresentou sempre uma cor verde intensa, sem oxidações e sem odores, ao longo de todo o tempo de armazenamento. A partir do 9º dia verificou-se uma perda de textura das folhas de espinafre, mas esta perda foi muito pontual, pelo que não se considerou como uma anomalia, só a partir do 10º dia é que foi observada uma ligeira perda de água, num maior número das folhas levando a alterações da textura, tornando este produto não conforme neste tempo de vida útil (Tabela 4.2).

**Tabela 4. 2 - Resultados do controlo organolético, nos tempos estipulados, do Espinafre Baby.**

<b>Tempo (dias)</b>	<b>Aspecto</b>	<b>Cheiro</b>	<b>Cor</b>	<b>Textura</b>
<b>1</b>	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
<b>6</b>	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
<b>8</b>	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
<b>9</b>	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
<b>10</b>	Conforme	Conforme	Conforme	Não conforme

#### 4.1.1.2. Controlo microbiológico

As tabelas 4.3 e 4.4 apresentam os resultados das análises microbiológicas realizadas ao longo dos dez dias de armazenamento. Verificaram-se valores de leveduras “não satisfatórios” em todos os dias do ensaio tanto para a Salada Ibérica como o Espinafre *Baby*. Em relação aos bolores os valores apresentaram grandes oscilações alternando entre valores satisfatórios (8º e 10º dia) e não satisfatórios (1º, 6º e 9º dia) para a Salada Ibérica e o não satisfatório (1º dia) e o aceitável (para os restantes dias), no caso do espinafre *baby*. Esta oscilação nos resultados sugere mais que tenha existido algum problema de contaminação pontual em algumas embalagens, uma vez que os resultados satisfatórios foram verificados no final do ensaio. Os restantes microrganismos pesquisados apresentaram ao longo do período de estudo valores considerados satisfatórios (*E. coli*, *Staphylococcus* coagulase positiva na Salada Ibérica, *Salmonella* spp. e *L. monocytogenes*) ou aceitáveis (microrganismos a 30°C) de acordo com os critérios utilizados (Tabela 3.1). A partir do 6º dia de conservação o Espinafre *Baby* apresentou valores de *Staphylococcus* coagulase positiva no limite do satisfatório e, portanto, ainda longe de atingir o limite do inaceitável/potencialmente perigoso (Tabela 3.1).



**Tabela 4. 3 - Resultados do controlo microbiológico, nos tempos estipulados, da Salada Ibérica.**

Microrganismos (ufc/g)	Tempo (dias)				
	1	6	8	9	10
<b>Microrganismos a 30 °C</b>	$3,7 \times 10^7$	$2,1 \times 10^7$	$1,7 \times 10^7$	$8,8 \times 10^7$	$6,7 \times 10^7$
<b>Leveduras</b>	$1,5 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$
<b>Bolores</b>	$1,5 \times 10^5$	$2,2 \times 10^4$	$2,5 \times 10^1$	$3,2 \times 10^3$	$2,0 \times 10^1$
<b><i>E. coli</i></b>	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$
<b><i>Staphylococcus coagulase positiva</i></b>	$<1,0 \times 10^1$	$<2,0 \times 10^1$	$<2,0 \times 10^1$	$<2,0 \times 10^1$	$<2,0 \times 10^1$
<b><i>Salmonella</i> spp.</b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<b><i>L. monocytogenes</i></b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

**Tabela 4. 4 - Resultados do controlo microbiológico, nos tempos estipulados, do Espinafre Baby.**

Microrganismos (ufc/g)	Tempo (dias)				
	1º	6º	8º	9º	10º
<b>Microrganismos a 30 °C</b>	$1,4 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$	$2,0 \times 10^7$	$2,1 \times 10^7$	$2,7 \times 10^7$
<b>Leveduras</b>	$1,5 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$
<b>Bolores</b>	$7,5 \times 10^4$	$5,5 \times 10^2$	$2,5 \times 10^2$	$4,0 \times 10^2$	$2,5 \times 10^2$
<b><i>E. coli</i></b>	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$
<b><i>Staphylococcus coagulase positiva</i></b>	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^2$	$<1,0 \times 10^2$	$<1,0 \times 10^2$	$<5,5 \times 10^1$
<b><i>Salmonella</i> spp.</b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<b><i>L. monocytogenes</i></b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

#### 4.1.2. Salada Camponesa e Alface Iceberg

A Salada Camponesa (Tabela 1.1) e a Alface Iceberg analisados foram produzidas no dia 27/03/2018 e pertencem ao lote de produção L2, estes produtos foram avaliados nos dias 28 de Março e 2, 4, 5 e 6 de abril de 2018 (1º, 6º, 8º, 9º e 10º dia).

##### 4.1.2.1. Controlo organolético

Ao longo do período do estudo a maioria dos componentes, exceto a alface baby verde e a couve roxa, mantiveram-se conformes. Ao oitavo dia começou a observar-se, uma ligeira perda de água da alface verde e, ao nono dia, as folhas apresentavam ligeira maceração, levando a perda de textura. O mesmo sucedeu ao 10º dia tanto para a alface verde como para a couve roxa. Pela análise organolética, este produto foi rejeitado ao 9º dia de vida útil (Tabela 4.5).

**Tabela 4. 5 - Resultados do controlo organolético, nos tempos estipulados, da Salada Camponesa.**

<b>Tempo (dias)</b>	<b>Aspeto</b>	<b>Cheiro</b>	<b>Cor</b>	<b>Textura</b>
<b>1</b>	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
<b>6</b>	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
<b>8</b>	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
<b>9</b>	Conforme	Conforme	Conforme	Não conforme
<b>10</b>	Conforme	Conforme	Conforme	Não conforme

As folhas de Alface Iceberg apresentaram sempre um aspeto fresco, não desidratado, uma cor característica do produto, sem oxidações, sem odores e sem alterações texturais ao longo do controlo organolético (Tabela 4.6).

**Tabela 4. 6 - Resultados do controlo organolético, nos tempos estipulados, da Alface Iceberg.**

<b>Tempo (dias)</b>	<b>Aspeto</b>	<b>Cheiro</b>	<b>Cor</b>	<b>Textura</b>
<b>1</b>	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
<b>6</b>	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
<b>8</b>	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
<b>9</b>	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
<b>10</b>	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme

#### 4.1.2.2. Controlo microbiológico

Os resultados obtidos para a Salada Camponesa (Tabela 4.7) mostram que foram obtidos valores não satisfatórios para as leveduras ao 6º dia de vida útil. Os restantes microrganismos pesquisados apresentaram valores satisfatórios (*E. coli*, *Staphylococcus* coagulase positiva *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* e microrganismos a 30 °C até ao 6º dia) ou aceitáveis (microrganismos a 30 °C a partir do 8 º dia) de acordo com os critérios utilizados. No caso dos bolores verificou-se um valor não satisfatório no 1 º dia, tendo-se verificado valores aceitáveis em todos os outros tempos analisados.

**Tabela 4. 7 - Resultados do controle microbiológico, nos tempos estipulados, para a Salada Camponesa.**

Microorganismos (ufc/g)	Tempo (dias)				
	1º	6º	8º	9º	10º
<b>Microorganismos a 30 °C</b>	2,5x10 <sup>5</sup>	7,6x10 <sup>5</sup>	1,5x10 <sup>7</sup>	8,7x10 <sup>6</sup>	3,0x10 <sup>7</sup>
<b>Leveduras</b>	5,6x10 <sup>4</sup>	1,5x10 <sup>5</sup>	1x10 <sup>5</sup>	1,5x10 <sup>5</sup>	1,5x10 <sup>5</sup>
<b>Bolores</b>	1,3x10 <sup>3</sup>	6,0x10 <sup>2</sup>	6,0x10 <sup>2</sup>	5,5x10 <sup>2</sup>	4,0x10 <sup>2</sup>
<b><i>E. coli</i></b>	<1,0x10 <sup>1</sup>	<1,0x10 <sup>1</sup>	<1,0x10 <sup>1</sup>	<1,0x10 <sup>1</sup>	<1,0x10 <sup>1</sup>
<b><i>Staphylococcus</i> coagulase positiva</b>	<1,0x10 <sup>2</sup>	<1,0x10 <sup>2</sup>	<1,0x10 <sup>2</sup>	<1,0x10 <sup>2</sup>	<1,0x10 <sup>2</sup>
<b><i>Salmonella</i> spp.</b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<b><i>L. monocytogenes</i></b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

Em relação à Alface Iceberg (Tabela 4.8), os microrganismos analisados apresentaram resultados satisfatórios (*E. coli*, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* e microrganismos a 30 °C até ao 6º dia) ou aceitáveis (leveduras, bolores e microrganismos a 30 °C a partir do 8º dia), estando em concordância com a avaliação organolética realizada.

**Tabela 4. 8 - Resultados do controle microbiológico, nos tempos estipulados, para a Alface Iceberg.**

Microorganismos (ufc/g)	Tempo (dias)				
	1º	6º	8º	9º	10º
<b>Microorganismos a 30 °C</b>	4,5x10 <sup>4</sup>	4,3x10 <sup>5</sup>	1,3x10 <sup>6</sup>	9,6x10 <sup>5</sup>	4,2x10 <sup>6</sup>
<b>Leveduras</b>	3,4x10 <sup>3</sup>	2,6x10 <sup>4</sup>	5,6x10 <sup>3</sup>	1,6x10 <sup>4</sup>	3,9x10 <sup>4</sup>
<b>Bolores</b>	4,0x10 <sup>2</sup>	2,5x10 <sup>2</sup>	1,0x10 <sup>3</sup>	2,5x10 <sup>2</sup>	1,0x10 <sup>2</sup>
<b><i>E. coli</i></b>	<1,0x10 <sup>1</sup>	<1,0x10 <sup>1</sup>	<1,0x10 <sup>1</sup>	<1,0x10 <sup>1</sup>	<1,0x10 <sup>1</sup>
<b><i>Staphylococcus</i> coagulase positiva</b>	<1,0x10 <sup>2</sup>	<1,0x10 <sup>2</sup>	<1,0x10 <sup>2</sup>	<1,0x10 <sup>2</sup>	<1,0x10 <sup>2</sup>
<b><i>Salmonella</i> spp.</b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<b><i>L. monocytogenes</i></b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

### 4.1.3. Rúcula Selvagem e Caldo verde

A Rúcula Selvagem e o Caldo Verde analisados foram produzidos no dia 03/04/2018 e pertencem ao lote de produção L3, estes produtos foram avaliados nos dias 4, 9, 11, 12 e 13 de abril de 2018 (1º, 6º, 8º, 9º e 10º dia).

#### 4.1.3.1. Controlo organolético

A Rúcula Selvagem apresentou sempre um aspeto fresco, não desidratado, uma boa cor característica do produto, sem oxidações, bom odor e sem alterações texturais ao longo do controlo organolético. (Tabela 4.9).

**Tabela 4. 9 - Resultados do controlo organolético, nos tempos estipulados, da Rúcula Selvagem.**

<b>Tempo (dias)</b>	<b>Aspeto</b>	<b>Cheiro</b>	<b>Cor</b>	<b>Textura</b>
<b>1</b>	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
<b>6</b>	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
<b>8</b>	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
<b>9</b>	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
<b>10</b>	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme

O Caldo Verde até ao 8º dia de tempo de vida útil, não apresentou anomalias em termos do aspeto, cheiro, cor e textura dos componentes. A partir do 9º dia, a couve-galega apresentou mau odor, tornando este produto não conforme a partir desse dia (Tabela 4.10).

**Tabela 4. 10- Resultados do controlo organolético, nos tempos estipulados, do Caldo verde.**

<b>Tempo (dias)</b>	<b>Aspeto</b>	<b>Cheiro</b>	<b>Cor</b>	<b>Textura</b>
<b>1</b>	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
<b>6</b>	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
<b>8</b>	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
<b>9</b>	Conforme	Não conforme	Conforme	Conforme
<b>10</b>	Conforme	Não Conforme	Conforme	Conforme

#### 4.1.3.2. Controlo microbiológico

Analisando os resultados obtidos para a Rúcula selvagem (Tabela 4.11), verifica-se que os bolores apresentaram valores aceitáveis no 1º dia e não satisfatórios a partir do 6º dia, enquanto que os restantes parâmetros microbiológicos avaliados mostraram valores satisfatórios (microrganismos a 30 °C, *E. coli*, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Salmonella* spp. e *L. monocytogenes*) ou aceitáveis (leveduras e microrganismos a 30 °C a partir do 6º dia). Apesar de no controlo organolético o produto ter apresentado as propriedades de qualidade conformes ao longo dos dez dias, o mesmo não se verificou na análise microbiológica.

**Tabela 4. 11 - Resultados do controlo microbiológico, nos tempos estipulados, para a Rúcula Selvagem.**

	Tempo (dias)				
Microrganismos (ufc/g)	1º	6º	8º	9º	10º
<b>Microrganismos a 30 °C</b>	$5,2 \times 10^6$	$2,3 \times 10^7$	$1,2 \times 10^7$	$4,8 \times 10^7$	$1,9 \times 10^7$
<b>Leveduras</b>	$9,0 \times 10^3$	$1,5 \times 10^4$	$1,5 \times 10^4$	$8,1 \times 10^4$	$9,9 \times 10^4$
<b>Bolores</b>	$2,5 \times 10^2$	$4,0 \times 10^3$	$2,4 \times 10^3$	$1,7 \times 10^4$	$3,5 \times 10^4$
<b><i>E. coli</i></b>	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$
<b><i>Staphylococcus</i> coagulase positiva</b>	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$
<b><i>Salmonella</i> spp.</b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<b><i>L. monocytogenes</i></b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

Os resultados das análises microbiológicas realizadas às amostras de Caldo Verde (Tabela 4.12) mostram valores não satisfatórios para os microrganismos a 30 °C ao 6º e 9º dia, para as leveduras a partir do 8º dia de vida útil e para os bolores ao 8º dia. Para os restantes microrganismos foram obtidos valores satisfatórios (*E. coli*, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Salmonella* spp. e *L. monocytogenes*) ou aceitáveis (bolores 1º, 6º, 9º e 10º dia, leveduras até ao 8º dia e microrganismos a 30 °C no 1º, 8º e 10º dia).

**Tabela 4. 12 - Resultados do controlo microbiológico, nos tempos estipulados, para o Caldo Verde.**

	Tempo (dias)				
Microrganismos (ufc/g)	1º	6º	8º	9º	10º
<b>Microrganismos a 30 °C</b>	$9,8 \times 10^6$	$1,7 \times 10^8$	$5,6 \times 10^7$	$1,5 \times 10^8$	$5,0 \times 10^7$
<b>Leveduras</b>	$5,2 \times 10^4$	$6,3 \times 10^4$	$1,2 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$
<b>Bolores</b>	$6,0 \times 10^2$	$8,0 \times 10^2$	$5,0 \times 10^3$	$4,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^2$
<b><i>E. coli</i></b>	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	$<2,5 \times 10^1$	$<4,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$
<b><i>Staphylococcus</i> coagulase positiva</b>	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$
<b><i>Salmonella</i> spp.</b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<b><i>L. monocytogenes</i></b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

#### 4.1.4. Sopa Portuguesa

A Sopa Portuguesa (Tabela 1.2) analisada pertence ao lote de produção L4. Para este produto ambas as avaliações (microbiológica e organolética) foram realizadas em diferentes tempos dos restantes. Assim, a Sopa Portuguesa foi produzida no dia 07/05/2018 e avaliada nos dias 9, 14, 15, 16 e 17 de maio de 2018 (2º, 7º, 8º, 9º e 10º dias).

##### 4.1.4.1. Controlo organolético

Ao longo do período do estudo todos os componentes da Sopa Portuguesa (cenoura, couve lombarda e alho francês), mantiveram-se conformes do ponto de vista organolético. Ao 10º dia observou-se uma ligeira desidratação da cenoura e do alho francês, mas estas alterações não foram muito significativas. Assim, considerou-se o produto conforme ao longo dos 10 dias (Tabela 4.13).

**Tabela 4. 13 - Resultados do controlo organolético, nos tempos estipulados, da Sopa Portuguesa.**

Tempo (dias)	Aspeto	Cheiro	Cor	Textura
2	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
7	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
8	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
9	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
10	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme

##### 4.1.4.2. Controlo microbiológico

Analisando os resultados obtidos nas análises microbiológicas das amostras da Sopa Portuguesa (Tabela 4.14)., verifica-se que para todos os microrganismos analisados se obtiveram resultados satisfatórios (*E. coli*, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* e microrganismos a 30 °C até ao 2º dia) ou acetáveis (leveduras, bolores e microrganismos a 30 °C a partir do 7º dia) durante os 10 dias de avaliação.

**Tabela 4. 14 - Resultados do controlo microbiológico, nos tempos estipulados, para a Sopa Portuguesa.**

Microrganismos (ufc/g)	Tempo (dias)				
	2º	7º	8º	9º	10º
<b>Microrganismos a 30 °C</b>	7,9x10 <sup>5</sup>	2,3x10 <sup>6</sup>	8,0x10 <sup>6</sup>	1,8x10 <sup>7</sup>	4,0x10 <sup>7</sup>
<b>Leveduras</b>	3,4x10 <sup>3</sup>	7,7x10 <sup>3</sup>	9,3x10 <sup>3</sup>	8,7x10 <sup>3</sup>	2,5x10 <sup>4</sup>
<b>Bolores</b>	2,5x10 <sup>2</sup>	2,5x10 <sup>2</sup>	1,0x10 <sup>2</sup>	2,5x10 <sup>2</sup>	2,5x10 <sup>2</sup>
<b><i>E. coli</i></b>	<1,0x10 <sup>1</sup>	<1,0x10 <sup>1</sup>	<2,0x10 <sup>1</sup>	<1,0x10 <sup>1</sup>	<1,0x10 <sup>1</sup>
<b><i>Staphylococcus</i> coagulase positiva</b>	<1,0x10 <sup>1</sup>	<1,0x10 <sup>1</sup>	<1,0x10 <sup>1</sup>	<1,0x10 <sup>1</sup>	<1,0x10 <sup>1</sup>
<b><i>Salmonella</i> spp.</b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<b><i>L. monocytogenes</i></b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

#### 4.1.5. Apreciação geral sobre o ensaio de extensão do prazo de validade

Olhando para os resultados de uma forma integrada e global, é possível verificar que todas as amostras de produtos de IV gama analisadas cumpriram o limite legal fixado pelo Regulamento (CE) No 1441/2007 em relação a *E. coli* (critério de higiene) e a *Salmonella* spp. e *L. monocytogenes* (critérios de segurança), ao longo de todo o período do estudo. No entanto, ao alargamos o critério de análise a outros parâmetros microbiológicos verifica-se que, a Salada Ibérica, o Espinafre *Baby*, a Salada Camponesa, a Rúcula Selvagem e o Caldo verde, apresentaram resultados “não satisfatórios” antes do fim de validade atual dos produtos. Os resultados “não satisfatórios” foram verificados na enumeração de microrganismos a 30 °C, bolores e leveduras.

Por estar presente em grande quantidade no trato gastrointestinal do homem, a presença de *E.coli* nos alimentos é um indicador de possível contaminação fecal (Zanoni et al., 2013), sendo utilizada como indicadores de higiene para a produção de produtos alimentícios. A presença de um indicador de higiene além de um certo limite indica um processo de produção insuficientemente higiénico (Lameira, 2011). Os valores satisfatórios de *E. coli* sugerem a correta aplicação das boas práticas de higiene durante a produção dos HMP.

A *Salmonella* spp e a *Listeria monocytogenes* são critérios de segurança, uma vez que se tratam de microrganismos patogénicos para o Homem. A transmissão de *Salmonella* spp. pode ocorrer através do contacto direto com animais infetados, por meio de material fecal contaminado ou também por contacto com água contaminada. Por ser integrante da flora intestinal normal de humanos é também indicativo de contaminação fecal (Lampel et al., 2012). O facto da *L. monocytogenes* se reproduzir a temperaturas baixas (2 - 4 °C) facilita a sua ocorrência em alimentos prontos a comer com um tempo de prateleira prolongado (Lampel et al., 2012; Veiga et al., 2012). Este microrganismo tem grande importância em termos de saúde pública uma vez que pode causar importantes infeções (listeriose), quer nos humanos quer nos outros animais. No presente estudo, nenhuma das amostras revelou a presença de *Salmonella* spp. nem de *L. monocytogenes*. Por se

tratarem de microrganismos patogénicos a sua ausência dos HMP é particularmente relevante. Vários estudos têm mostrado a existência de baixos níveis de contaminação de saladas com estes microrganismos. Zanon et al. (2013), ao avaliarem as condições hígio-sanitárias de restaurantes tipo *self-service*, também constatarem a ausência de *Salmonella* nas amostras de saladas de vegetais crus analisadas. Santos et al. (2012) ao pesquisar a presença de *Salmonella* em hortaliças minimamente processadas comercializadas na cidade de Campinas-SP/Brasil, também não detetou este microrganismo num universo de 155 amostras. Um estudo realizado em Portugal por Guerra e Bernardo (2001) a vários alimentos, dos quais 23 amostras eram saladas de vegetais, nomeadamente saladas com alface, pepino, azeitonas, tomate e cenoura, não detetaram a presença de *Listeria monocytogenes* nas amostras (Trindade, 2014). De Giusti et al. (2010), ao analisarem 699 amostras de HMP, em Itália, detectaram *L. monocytogenes* em apenas duas amostras de saladas mistas (0,3%). Num estudo realizado por Santos et al. (2012), ao avaliarem a qualidade microbiológica e a incidência dos principais patogénicos bacterianos de origem alimentar em saladas MP comercializadas em Portugal, detectaram a *L. monocytogenes* ( $<10^2$  ufc/g) em apenas uma amostra (0,66%).

O número de microrganismos aeróbios mesófilos encontrado num alimento tem sido um dos indicadores microbiológicos de qualidade, mais comumente utilizados, indicando se a limpeza, desinfecção e controlo de temperatura durante os processos de tratamento industrial, transporte e armazenamento, foram realizados de forma adequada. Esta determinação permite também obter informação sobre a alteração incipiente dos alimentos, a sua provável vida útil e os desvios na temperatura de refrigeração estabelecidos (Trindade, 2014). No presente estudo estes microrganismos apresentaram valores que variaram de  $10^2$  a  $10^8$  ufc/g, tendo os valores superiores a  $10^8$  ufc/g, limite do não satisfatório (HPA, 2009), sido encontrados no Caldo Verde ao 6º dia, ou seja, antes do fim de validade do produto.

Foram encontrados valores não satisfatórios de leveduras nas amostras de Salada Ibérica, Salada Camponesa, Espinafre *Baby* e Caldo Verde. No caso da Salada Ibérica, do Espinafre *Baby* e da Salada Camponesa estes valores foram encontrados mesmo antes do fim de validade dos produtos. Já em relação aos bolores encontraram-se valores não satisfatórios na Salada Ibérica e na Rúcula Selvagem. Apesar de não constituírem um problema de saúde pública, uma vez que na sua maioria não são patogénicas, as leveduras podem contribuir de forma muito significativa para a deterioração dos alimentos. A presença de bolores pode ser mais preocupante uma vez que diversos géneros deste grupo de microrganismos podem produzir micotoxinas (Lampel et al., 2012).

A presença de microrganismos a 30 °C, de bolores e de leveduras antes do fim de validade dos produtos pode ter sido resultado de manipulação inadequada ou do contacto com equipamentos, superfícies e utensílios mal higienizados. A qualidade e a segurança dos HMP estão diretamente relacionadas com a sua microbiota inicial, sendo que o manuseio, a pré-higienização, o acondicionamento e o transporte inadequados até a fábrica de processamento podem comprometer a qualidade e a segurança do produto através do desenvolvimento da população inicial de microrganismos (Nascimento et al., 2014). Quando a matéria-prima utilizada para a produção de HMP



apresenta um elevado número de microrganismos, os processos de lavagem e desinfecção podem não ser suficientes para a diminuição dessa carga microbiana, uma vez que segundo Santos e Junqueira (2010), o processo de lavagem e descontaminação raramente consegue uma redução maior do que dois ciclos logarítmicos na população. A água de lavagem utilizada é outro veículo importante para a contaminação cruzada. A qualidade da água deteriora-se rapidamente durante o processo de lavagem à medida que produtos com elevada contaminação, entram nos tanques de lavagem (Santos et al., 2012). Apesar das elevadas contagens destes microrganismos nos HMP avaliados, nem todos os produtos apresentaram sinais visíveis de deterioração. Numa revisão de Ragaert et al., (2007), concluiu-se que contagens de microrganismos a 30 °C que produzem mudanças na qualidade sensorial dos HMP, resultando em rejeição do produto são na maioria dos casos 7 a 8 log ufc/g.

No caso dos *Staphylococcus* coagulase positiva, foram encontrados valores no limite máximo do satisfatório ( $1 \times 10^2$  ufc/g) nas Saladas Ibérica e Camponesa, no Espinafre *Baby* e na Alface Iceberg. Contudo, este valor não é ainda considerado inaceitável nem potencialmente perigoso. De acordo com Valores Guia para avaliação da qualidade de saladas, vegetais e frutos crus indicados pelo INSA (Santos, 2005) consideram-se produtos inaceitáveis e potencialmente perigosos aqueles que apresentarem contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva superiores a  $1 \times 10^4$  ufc/g. A presença de *Staphylococcus spp.* nos alimentos ou superfícies pode ser interpretada como indicador de contaminação pelos manipuladores e indicativa de ausência de controle higiênico-sanitário nos processos de produção de alimentos e na qualidade de sanitização das superfícies destinadas ao contato com os alimentos (Mallet et al., 2017). Outros estudos têm mostrado a existência de contaminação com *Staphylococcus* coagulase positiva em HMP. Assim, Trindade (2014) analisou saladas de alface e de cenoura, tendo detetado a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva em 30% das amostras de salada de alface e em 5% das amostras de salada de cenoura. Mallet et al. (2017), também detetaram a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva em 11% das amostras de HMP analisadas.

Verificou-se que a contaminação dos produtos em análise variou muito para cada tipo de produto. Cada produto tem uma combinação única de características físicas e de composição e terá práticas específicas de crescimento, colheita, processamento e condições de temperatura de armazenamento (Capozzi et al., 2009). A deterioração microbiana depende de vários fatores inerentes ao produto como, o seu conteúdo de nutrientes, pH e  $a_w$ , ou seja, é expectável que pela sua composição os vegetais apresentem diferentes de contaminação microbiana (Francis et al., 2012). Por outro lado, a diferença na morfologia das folhas e dos restantes constituintes dos produtos podem também ajudar na maior ou menor possibilidade de adesão de microrganismos (Cardamone et al., 2015).

Tendo por base o controlo organolético e os limites legais estabelecidos para este tipo de produtos (Regulamento (CE) No 1441/2007) os resultados sugerem para os sete produtos IV Gama analisados a possibilidade de alargar o prazo de tempo de vida útil até o 10º dia. Contudo, considerando todos os critérios microbiológicos os resultados apenas suportam o alargamento do

prazo de validade para a Sopa Portuguesa e para a Alface Iceberg. Para que este prazo possa ser alargado sem que se ultrapasse nenhum destes critérios parece ser necessário ajustar os processos de desinfecção de modo a reduzir para valores mais baixos a carga microbiana dos produtos na altura do embalamento.

## 4.2. Avaliação do comportamento dos produtos IV Gama a diferentes temperaturas de refrigeração

### 4.2.1. Salada Ibérica

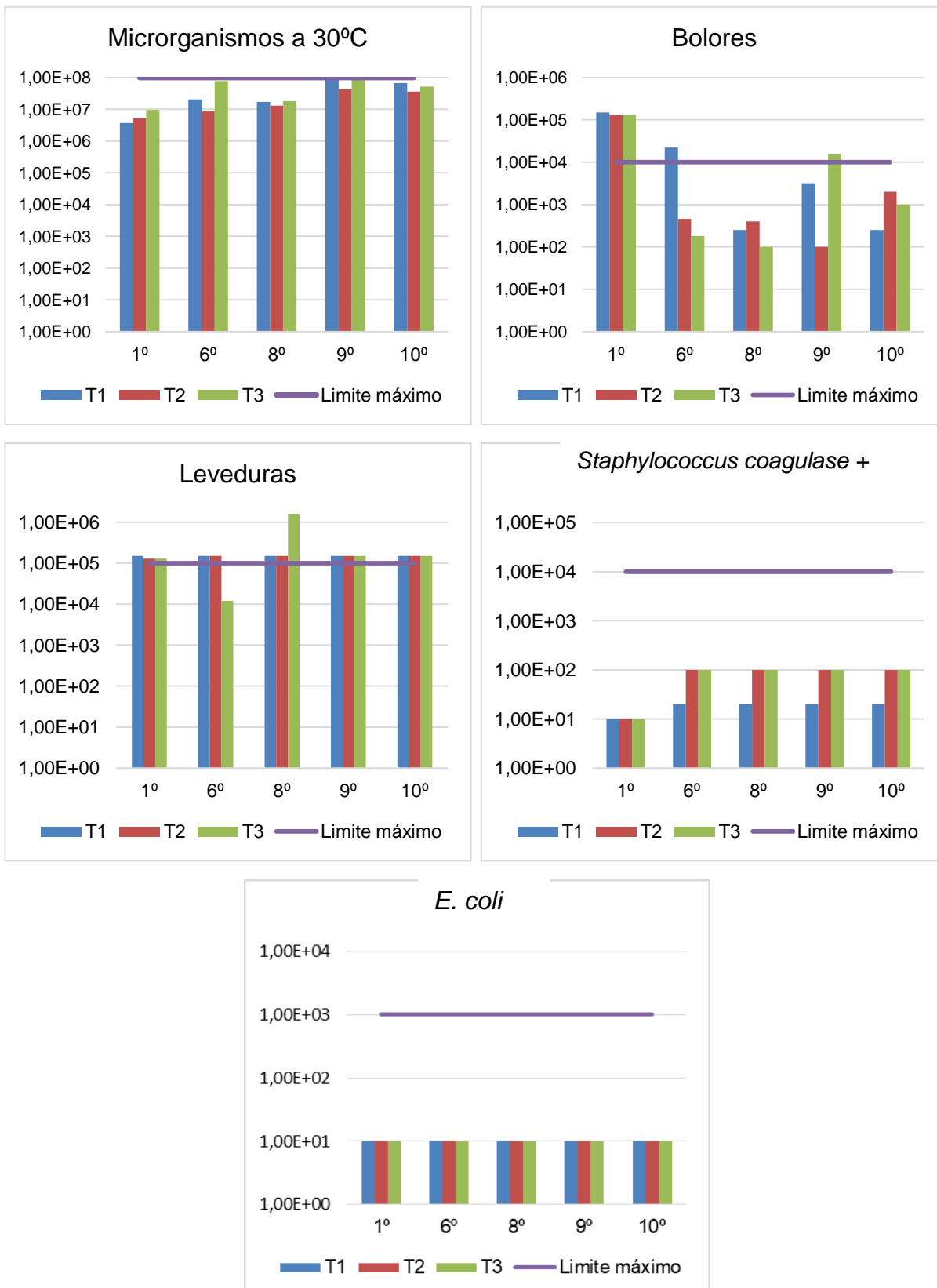
A Figura 4.1 mostra os resultados obtidos com a Salada Ibérica ao longo dos 10 dias de conservação às temperaturas de 1 a 4 °C (T1), 4 a 6 °C (T2) e 6 a 8 °C (T3). Assim, para todos os tempos e para todas as temperaturas os valores de *E. coli*, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*, *Staphylococcus* coagulase positiva e microrganismos a 30 °C, foram sempre inferiores aos limites estabelecidos pelo Regulamento (CE) No 1441/2007 (*E. coli*, *Salmonella* spp. e *L. monocytogenes*) ou pelo INSA para *Staphylococcus* coagulase positiva (Santos, 2005) ou pela *Health Protection Agency*, do Reino Unido para microrganismos a 30 °C (HPA, 2009). Na contagem de microrganismos a 30 °C e de *Staphylococcus* coagulase positiva, independentemente da temperatura de armazenamento observou-se um aumento das contagens do 1º para o 6º dia, mas sempre abaixo do limite máximo de aceitabilidade. Contudo, enquanto que na contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva esse aumento foi mais expressivo quando o armazenamento foi efetuado às temperaturas mais elevadas (T2 e T3), no caso dos microrganismos a 30 °C esse aumento parece ser independente da temperatura.

Relativamente aos bolores e leveduras verificaram-se valores não satisfatórios ao 1º dia de vida útil a todas as temperaturas de armazenamento utilizadas. Os valores apresentaram depois oscilações que não se parecem relacionar com a temperatura.

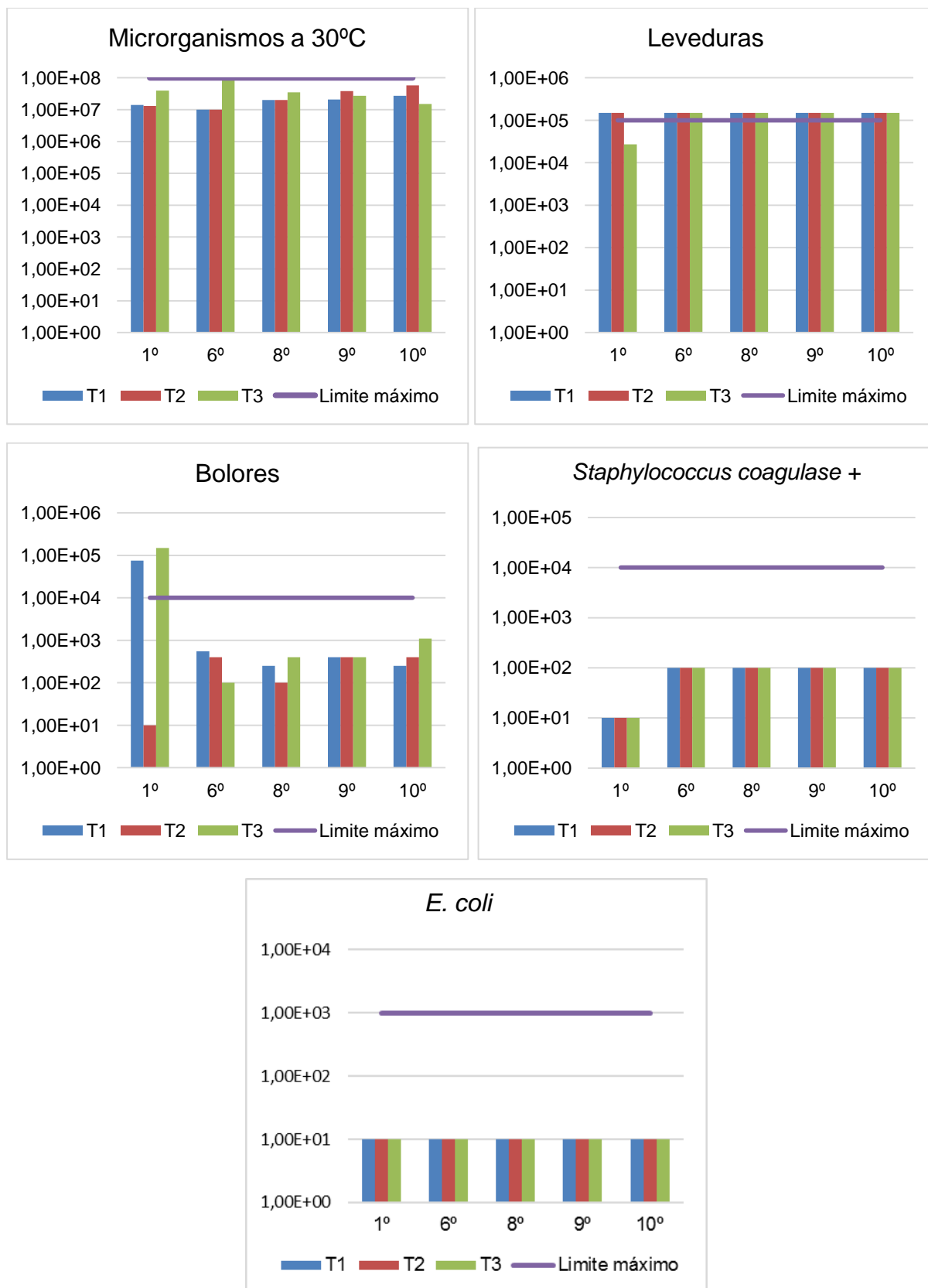
### 4.2.2. Espinafre Baby

Para o Espinafre Baby (Figura 4.2), verificou-se que, para todas as temperaturas de refrigeração e ao longo do período de estudo, os valores de *E. coli*, *Salmonella* spp. e *L. monocytogenes* foram sempre inferiores aos limites estabelecidos pelo Regulamento 1441/2007, os valores de *Staphylococcus* coagulase positiva sempre inferiores ao limite de aceitabilidade definido pelo INSA (Santos, 2005) e as contagens de microrganismos a 30 °C sempre inferiores ao limite estabelecido pela *Health Protection Agency*, do Reino Unido (HPA, 2009). Na contagem de microrganismos a 30 °C e de *Staphylococcus* coagulase positiva, independentemente da temperatura de armazenamento observou-se um aumento das contagens do 2º para o 6º dia. Contudo, nos dois casos, esse aumento parece ser independente da temperatura.

Relativamente aos bolores e leveduras verificaram-se valores não satisfatórios ao 1º dia de vida útil. No caso das leveduras, os valores mostraram-se sempre aproximadamente constantes independentemente da temperatura de armazenamento. Já no caso dos bolores, os valores apresentaram oscilações que não se parecem relacionar com a temperatura. Tal como já tinha sido referido no ponto 4.1.1.2, esta oscilação nos resultados sugere mais que tenha existido algum problema de contaminação pontual em algumas embalagens, uma vez que os resultados diminuíram do 1º para o 6º dia, nas amostras armazenadas às temperaturas T1 e T3. Analisando só os resultados a partir do 6º dia, mais uma vez, não parece haver uma grande influência da temperatura no desenvolvimento destes microrganismos.



**Figura 4.1** - Análises microbiológicas realizadas à Salada Ibérica ao longo de dez dias de armazenamento a uma temperatura de 1 a 4 °C (T1), 4 a 6 °C (T2) e 6 a 8 °C (T3).



**Figura 4.2 - Análises microbiológicas realizadas ao Espinafre Baby ao longo de dez dias de armazenamento a uma temperatura de 1 a 4 °C (T1), 4 a 6 °C (T2) e 6 a 8 °C (T3).**

### 4.2.3. Salada Camponesa

Para a Salada Camponesa (Figura 4.3), verificou-se que, para todas as temperaturas de refrigeração e ao longo do período de estudo, os valores de *E. coli*, *Salmonella spp.* e *L. monocytogenes* foram sempre inferiores aos limites estabelecidos pelo Regulamento 1441/2007 e os valores de *Staphylococcus* coagulase positiva e de bolores sempre inferiores aos limites definidos pelo INSA (Santos, 2005). Mais uma vez, a temperatura de armazenamento não parece ter exercido um grande efeito sobre as contagens de todos estes parâmetros microbiológicos.

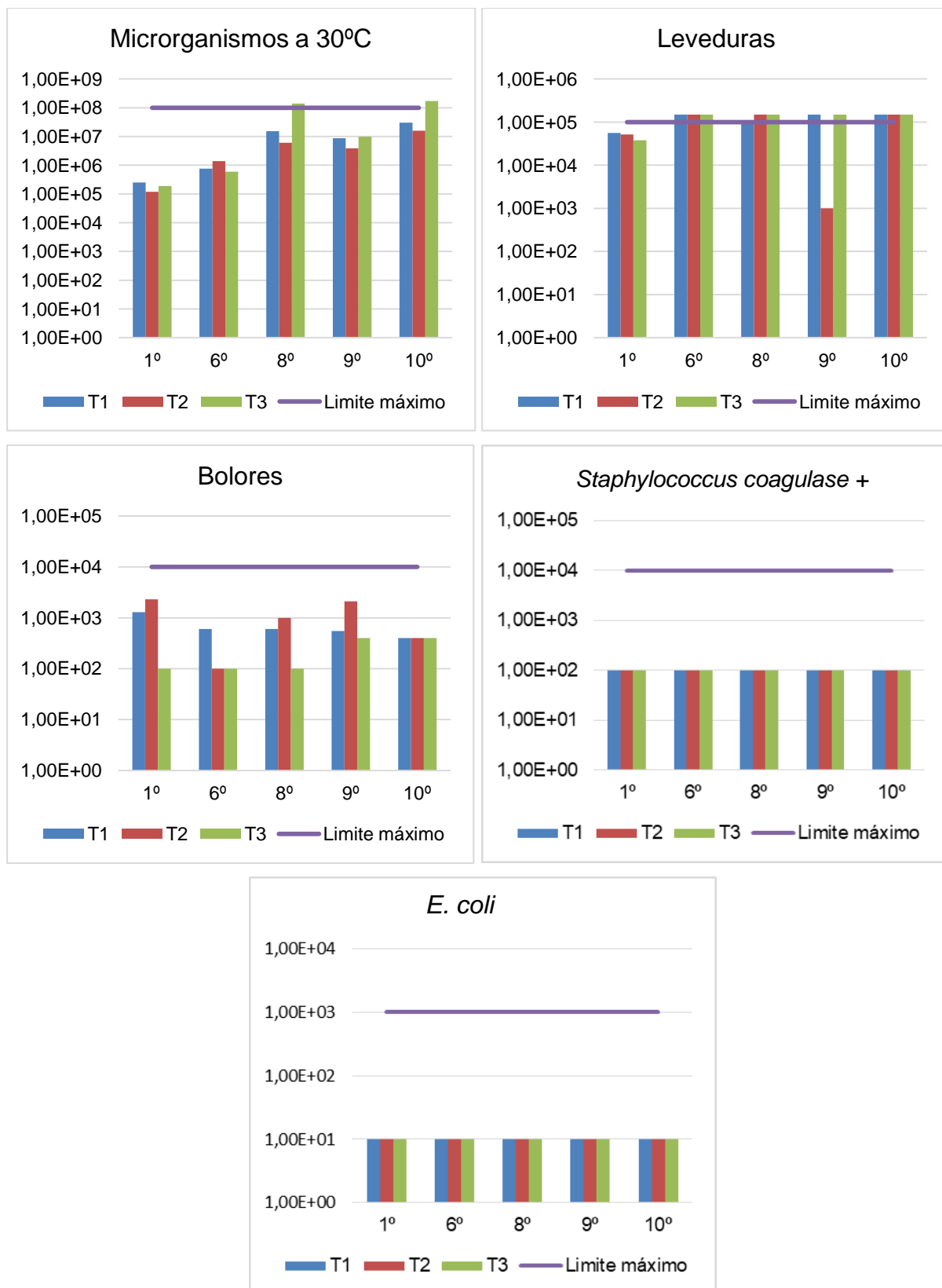
Analisando a contagem de microrganismos a 30 °C verifica-se uma tendência para o aumento deste valor ao longo do tempo de armazenamento, em especial quando este armazenamento se processa à temperatura de 6 a 8 °C (T3). Com efeito, nestas condições de armazenamento existem dois dias (8º e 10º dia) em que o limite estabelecido pela *Health Protection Agency*, do Reino Unido (HPA, 2009) para microrganismos a 30 °C foi ultrapassado ( $1,4 \times 10^8$  ufc/g).

Finalmente, analisando o resultado obtido na contagem de leveduras verifica-se que estes apresentaram valores aceitáveis a todas as temperaturas no 1º dia e não satisfatórios a partir do 6º dia de tempo de vida útil. Mais uma vez, a temperatura de armazenamento não parece ter exercido um grande efeito sobre as contagens leveduras, uma vez que, na generalidade, se verificam valores semelhantes para todos os dias, independentemente da temperatura.

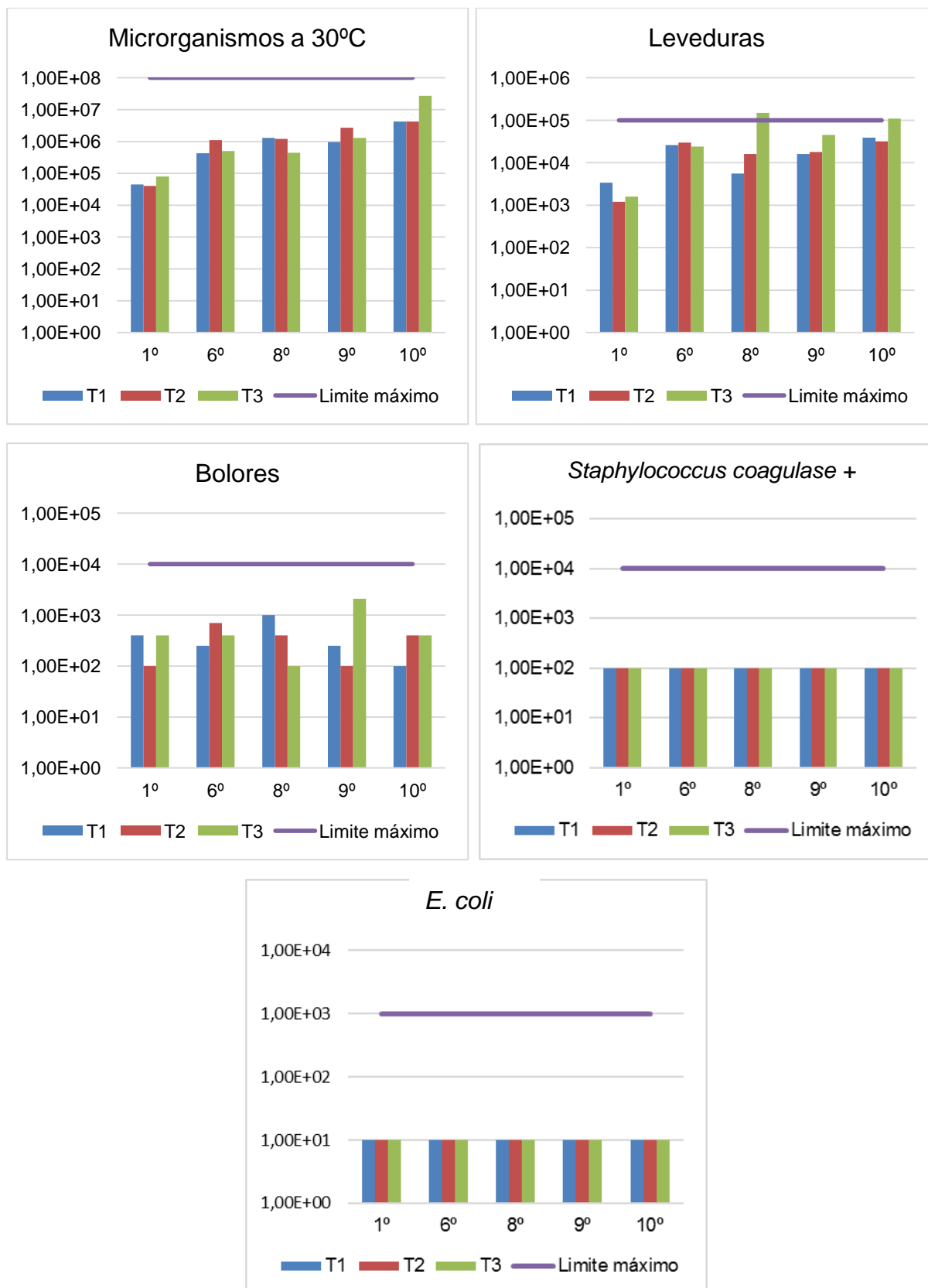
### 4.2.4. Alface Iceberg

Analisando os resultados obtidos das amostras da Alface Iceberg (Figura 4.5), verifica-se que a todas as temperaturas de refrigeração e ao longo do período de estudo os valores de *E. coli*, *Salmonella spp.* e *L. monocytogenes* foram sempre inferiores aos limites estabelecidos pelo Regulamento 1441/2007, os valores de *Staphylococcus* coagulase positiva e de bolores sempre inferiores aos limites definidos pelo INSA (Santos, 2005) e as contagens de microrganismos a 30 °C sempre inferiores ao limite estabelecido pela *Health Protection Agency*, do Reino Unido (HPA, 2009). No caso das leveduras registaram-se valores não satisfatórios quando a Salada Iceberg permaneceu armazenada a uma temperatura de 6 a 8 °C, ao 8º ( $1,5 \times 10^5$  ufc/g) e 10º dia de avaliação ( $1,1 \times 10^5$  ufc/g). As contagens de microrganismos a 30 °C e de leveduras foram aumentando ao longo do tempo de armazenamento. A temperatura de armazenamento parece ter tido alguma influência nas contagens de leveduras uma vez que foi nas amostras armazenadas à temperatura mais elevada (T3) que se verificaram os valores não satisfatórios.

Posto isto, os resultados sugerem que a Alface Iceberg quando acondicionada de 1 a 6 °C possa ter um tempo de vida até o 10º dia e quando armazenado de 6 a 8 °C possa ter um tempo de vida mais curto (até ao 8º dia). Contudo, para retirar uma conclusão mais segura seria, igualmente, necessário proceder à avaliação organolética do produto armazenado a estas temperaturas.



**Figura 4.3 - Análises microbiológicas realizadas à Salada Camponesa ao longo de dez dias de armazenamento a uma temperatura de 1 a 4 °C (T1), 4 a 6 °C (T2) e 6 a 8 °C (T3).**



**Figura 4.4 -** Análises microbiológicas realizadas à Alface Iceberg ao longo de dez dias de armazenamento a uma temperatura de 1 a 4 °C (T1), 4 a 6 °C (T2) e 6 a 8 °C (T3).



#### 4.2.5. Rúcula Selvagem

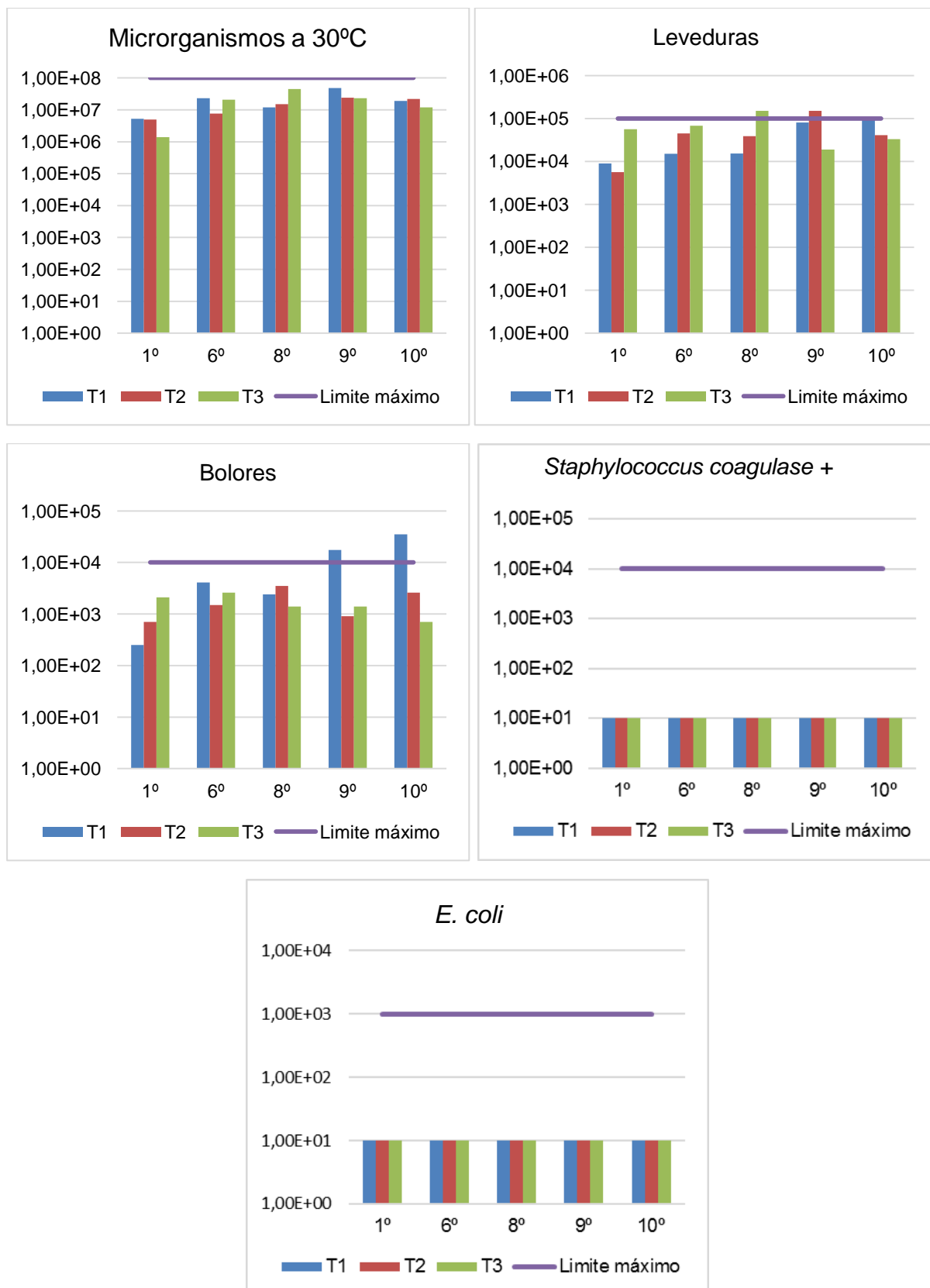
Analisando os resultados obtidos das amostras de Rúcula Selvagem (Figura 4.6), verifica-se que a todas as temperaturas de refrigeração e ao longo do período de estudo os valores de *E. coli*, *Salmonella spp.* e *L. monocytogenes* foram sempre inferiores aos limites estabelecidos pelo Regulamento 1441/2007, os valores de *Staphylococcus coagulase positiva* sempre inferiores ao limite definido pelo INSA (Santos, 2005) e as contagens de microrganismos a 30 °C sempre inferiores ao limite estabelecido pela *Health Protection Agency*, do Reino Unido (HPA, 2009).

No caso dos bolores e leveduras registaram-se valores não satisfatórios em alguns tempos analisados mas não se conseguiu estabelecer uma relação direta entre esses valores não satisfatórios e a temperatura de armazenamento.

#### 4.2.6. Caldo Verde

Os resultados obtidos para as amostras de Caldo verde (Figura 4.7), mostram que a todas as temperaturas de refrigeração e ao longo do período de estudo os valores de *E. coli*, *Salmonella spp.* e *L. monocytogenes* foram sempre inferiores aos limites estabelecidos pelo Regulamento 1441/2007 e os valores de *Staphylococcus coagulase positiva* e de bolores sempre inferiores aos limites definidos pelo INSA (Santos, 2005).

No caso das leveduras e dos microrganismos a 30 °C registaram-se valores não satisfatórios em alguns tempos analisados mas, mais uma vez, não se conseguiu estabelecer uma relação direta entre esses valores não satisfatórios e a temperatura de armazenamento. Verificaram-se, igualmente, oscilações nos valores de *E. coli* e de bolores ao longo do armazenamento mas também essas variações não parecem ter uma relação direta com a temperatura de armazenamento.



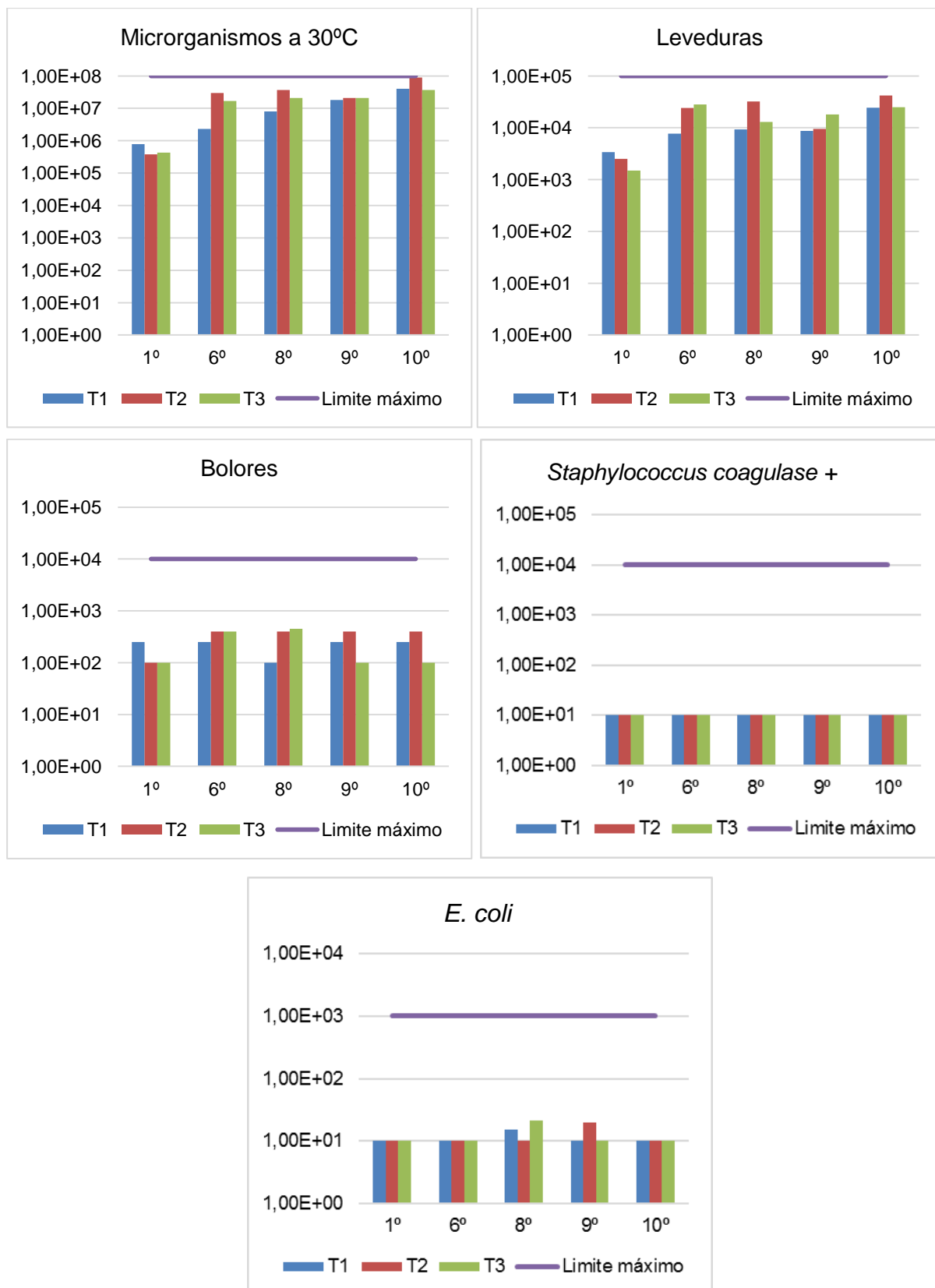
**Figura 4.5** - Análises microbiológicas realizadas à Rúcula Selvagem ao longo de dez dias de armazenamento a uma temperatura de 1 a 4 °C (T1), 4 a 6 °C (T2) e 6 a 8 °C (T3).



**Figura 4.6 -** Análises microbiológicas realizadas ao Caldo Verde ao longo de dez dias de armazenamento a uma temperatura de 1 a 4 °C (T1), 4 a 6 °C (T2) e 6 a 8 °C (T3).

#### 4.2.7. Sopa Portuguesa

Para a Sopa Portuguesa (Figura 4.8), verificou-se que, para todas as temperaturas de refrigeração e ao longo do período de estudo, os valores de *E. coli*, *Salmonella* spp. e *L. monocytogenes* foram sempre inferiores aos limites estabelecidos pelo Regulamento 1441/2007, os valores de *Staphylococcus* coagulase positiva, bolores e leveduras sempre inferiores aos limites de definidos pelo INSA (Santos, 2005) e as contagens de microrganismos a 30 °C sempre inferiores ao limite estabelecido pela *Health Protection Agency*, do Reino Unido (HPA, 2009). Tal como verificado nos exemplos anteriores, verificaram-se oscilações nas contagens de microrganismos a 30 °C, bolores e leveduras mas que não parecem estar diretamente relacionadas com a temperatura.



**Figura 4.7-** Análises microbiológicas realizadas à Sopa Portuguesa ao longo de dez dias de armazenamento a uma temperatura de 1 a 4 °C (T1), 4 a 6 °C (T2) e 6 a 8 °C (T3).

#### 4.2.8. Apreciação geral sobre o ensaio de conservação a diferentes temperaturas

O armazenamento dos HMP deve ser, obrigatoriamente, a uma temperatura de refrigeração, que ronda os 4 °C, de forma a garantir a manutenção das características sensoriais e microbiológicas. Contudo, durante o transporte, manuseamento e armazenamento a temperatura é muitas vezes inadequada, ficando os produtos sujeitos a abusos de temperatura (Nascimento et al., 2014). De acordo com Nicola e Fontana (2014), podem encontrar-se temperaturas superiores a 10 °C na cadeia de frio destes produtos, durante o transporte e descarga no supermercado, armazenamento e exposição no mercado ou nos frigoríficos domésticos.

Assim, neste ponto do trabalho estudou-se o comportamento dos diferentes produtos de IV gama quando armazenados a três gamas de temperaturas diferentes (1 a 4 °C, 4 a 6 °C e 6 a 8 °C). Os resultados obtidos mostraram a existência de oscilações nas contagens de microrganismos ao longo do ensaio. Contudo não foi possível estabelecer uma relação entre essas oscilações e a temperatura de armazenamento. Caldera e Franzetti (2014) estudaram o comportamento de canónigos e de três variedades de alface minimamente processados quando armazenados a 4 e a 10 °C e também não identificaram diferenças significativas ( $P < 0,01$ ) entre as contagens de microrganismos totais das saladas ao longo de oito a dez dias de armazenamento a essas duas temperaturas. Desta forma as oscilações de temperatura a que os produtos são normalmente sujeitos não parecem ter um efeito acentuado na qualidade microbiológica dos produtos.

O grau de contaminação e a variação dessa contaminação ao longo do ensaio apresentou diferenças entre os vários produtos. Para cada dia e a cada temperatura avaliada foram utilizadas diferentes embalagens, estas oscilações nos resultados sugerem provavelmente que das embalagens utilizadas para as análises microbiológicas às diferentes temperaturas, tenha existido algum problema de contaminação pontual, como o próprio material da película utilizado para a embalagem do produto. Tal como já anteriormente referido, essas diferenças podem-se também relacionar com diferentes características físicas e de composição, das práticas de crescimento, colheita e processamento dos produtos (Capozzi et al., 2009). Apesar do aumento das contagens microbiológicas verificado nunca foram ultrapassados os limites legais fixados pelo Regulamento 1441/2007.

## 5. Conclusão

O consumo de hortofrutícolas tem vindo a aumentar, em parte, devido ao seu teor em vitaminas, fibras e minerais que têm sido relacionados com uma diminuição de riscos de desenvolvimento de diversas doenças crónicas. Pela sua conveniência, a procura de hortofrutícolas minimamente processados tem vindo, igualmente, a aumentar. As saladas deixaram de ser uma simples entrada ou apenas um acompanhamento do prato principal, passando a ter um maior destaque na alimentação, associado a um novo paradigma de dietas saudáveis e pouco calóricas.

As saladas cruas são alimentos que apresentam um alto risco de contaminação microbiológica, e por isso podem representar um risco significativo do prato ao prato, se não forem aplicadas as medidas de controlo adequadas durante o seu processamento e preparação. A qualidade microbiológica dos PMP está diretamente relacionada com a presença tanto de microrganismos deteriorantes, que levarão a alterações indesejáveis das características sensoriais do produto, como cor, aroma, textura e aparência como, também de microrganismos patogénicos em concentrações prejudiciais à saúde.

Para a indústria alimentar, um maior tempo de vida útil dos produtos significa menores perdas e possibilidade de um melhor planeamento da produção, do armazenamento e da logística. Assim, neste trabalho, avaliou-se a possibilidade de alargamento do tempo de vida útil de um grupo de produtos de sete produtos de IV gama (Salada Camponesa, Salada Ibérica, Alface Iceberg, Espinafre *Baby*, Rúcula Selvagem, Caldo Verde e Sopa Portuguesa), durante um tempo de prateleira de 10 dias. Tendo por base o controlo organolético e os limites legais estabelecidos para este tipo de produtos (Regulamento (CE) No 1441/2007) os resultados sugerem para a Rúcula Selvagem, Alface Iceberg e Sopa Portuguesa a possibilidade de alargar o prazo de tempo de vida útil até o 10º dia, para a Salada Ibérica e para o Espinafre *Baby* até ao 9º dia e para a Salada Camponesa e Caldo Verde até ao 8º dia. Contudo, considerando todos os critérios microbiológicos os resultados apenas suportam o alargamento do prazo de validade para a Sopa Portuguesa. Para que este prazo possa ser alargado sem que se ultrapasse nenhum destes critérios parece ser necessário ajustar os processos de desinfeção de modo a reduzir a carga microbiana dos produtos na altura do embalamento.

Estudou-se o comportamento destes produtos de IV gama quando armazenados a três gamas de temperaturas diferentes (1 a 4 °C, 4 a 6 °C e 6 a 8 °C). Os resultados obtidos mostraram a existência de oscilações nas contagens de microrganismos ao longo do ensaio. Contudo não foi possível estabelecer uma relação entre essas oscilações e a temperatura de armazenamento. Desta forma as oscilações de temperatura a que os produtos são normalmente sujeitos não parecem ter um efeito acentuado na qualidade microbiológica dos produtos. Apesar do aumento das contagens microbiológicas verificado nunca foram ultrapassados os limites legais fixados pelo Regulamento 1441/2007.

Para se conseguir uma maior validação dos resultados e, assim, poder tirar conclusões mais robustas, deveria ser efetuada uma amostragem mais ampla, com um maior número de amostras de cada tipo de salada e com análises efetuadas em intervalos de tempo mais curtos.

O desenvolvimento deste trabalho proporcionou a aquisição de novos conhecimentos bem como a consolidação de alguns já apreendidos. Este trabalho permitiu ainda apurar experiência prática relativamente às atividades relacionadas com a qualidade e segurança alimentar numa empresa, uma vez que, para além do estudo que esteve na base da presente dissertação, foram, igualmente, realizadas outras atividades referentes à Qualidade e Segurança Alimentar da empresa. Assim, durante o período de permanência na empresa houve oportunidade de colaborar no estudo do tempo de prateleira de múltiplos produtos, efetuar o controlo e qualidade da batata e participar na verificação dos lotes das cargas e respetivo registo, antes da saída dos produtos da fábrica para distribuição. As atividades desenvolvidas envolveram ainda as pesagens de antioxidantes e/ou alergénios (ácido ascórbico, ascorbato de cálcio e metabissulfito). A pesagem destes produtos exige medidas particularmente rigorosas de modo a garantir as corretas dosagens em que são adicionados aos tanques e a inexistência de contaminações cruzadas com alergénios. Todos estes conhecimentos, posteriormente serão úteis no desempenho do vasto leque de possíveis funções que cabem desempenhar a um(a) Engenheiro(a) Alimentar.



## 6. Referências Bibliográficas

- AHERN, S. M.; CATON S.J.; BOUHLAL S.; HAUSNER H.; OLSEN A.; NICKLAUS S.; MOLLER P.; HETHERINGTON M.M. Eating a Rainbow. Introducing vegetables in the first years of life in 3 European countries. **Appetite**, v. 71, p. 48–56, 2013.
- AKED, J. Maintaining the post-harvest quality of fruits and vegetables. . In: JONGEN, W., R. Edts Fruit and vegetable processing. CRC Press, Boca Raton, NY, EUA, ISBN ISBN 0-8493-1541-7, p.119-146, 2002.
- ALVES, J.A.; BOAS E.V.B.V; SOUZA E.C.;BOAS B.M.V.; PICCOLI R.H. Vida útil de produto minimamente processado composto por abóbora, cenoura, chuchu e mandioquinha-salsa. **Ciênc. agrotec. Lavras**, v. 34, n. 1, p. 182-189, 2010.
- ALLENDE, A., TOMÁS-BARBERÁN, F., GIL, M. Minimal processing for healthy traditional foods. **Trends in Food Science & Technology**, v.17, n.9, p.513–519, 2006.
- ANCOS, B.D.; SÁNCHEZ-MORENO, C.; PLAZA, L.; CANO, M.P. Nutritional and Health Aspects of Fresh-Cut Vegetables. In: MARTIN-BELLOSO, O.; SOLIVA-FORTUNY, R. Edts *Advances in Fresh-Cut Fruits and Vegetables Processing*. Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, EUA, ISBN 13-978-1-4200-7123-8, p.145-184, 2011.
- ANSAH F.A.; AMODIO M.L.; COLELLI, G. Quality of fresh-cut products as affected by harvest and postharvest operations. Università di Foggia, Dip.to di Scienze Agrarie, degli alimenti e dell'Ambiente, 2018.
- ASODA, T., TERAJ, H., KATO, M., SUZUKI, Y. Effects of postharvest ethanol vapor treatment on ethylene responsiveness in broccoli. **Postharvest Biology and Technology**, v. 52, p.216–220, 2009.
- AZEREDO, G. A.; STAMFORD, T.L.M.;NUNES, P.C.; NETO, N.J.G.; OLIVEIRA, M.E.G.O. Combined application of essential oils from *Origanum vulgare* L. and *Rosmarinus officinalis* L. to inhibit bacteria and autochthonous microflora associated with minimally processed vegetables. **Food Research International**, v. 44, n. 5, p. 1541–1548, 2011.
- BAI, J.; BALDWIN E.A. Physiology of Fresh-Cut Fruits and Vegetables. In: MARTIN-BELLOSO, O.; SOLIVA-FORTUNY, R. Edts *Advances in Fresh-Cut Fruits and Vegetables Processing*. Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, EUA, ISBN 13-978-1-4200-7123-8, p.87-113, 2011.
- BALDWIN, E.A., BAI, J. Physiology of Fresh-Cut Fruits and Vegetables. In: MARTIN-BELLOSO, O.; SOLIVA-FORTUNY, R. Edts *Advances in Fresh-Cut Fruits and Vegetables Processing*. Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, EUA, ISBN 13-978-1-4200-7123-8, p. 87-104, 2011.
- BAPAT, V., TRIVEDI, P., GHOSH, A., Sane, V., GSNSPSTHI, T., NATH, P. Ripening of fleshy fruit: molecular insight and the role of ethylene. **Biotechnology Advances**, v.28, n.1), p.94–107, 2010.
- BAPTISTA,P., VENÂNCIO, A. Os Perigos para a Segurança Alimentar no Processamento de Alimentos. **L. Forvisão, Ed.**, v.1, Guimarães, Portugal, 2003.
- BARRETT, D. M.; BEAULIEU, J. C.; SHEWFELT, R. Color, flavor, texture, and nutritional quality of fresh-cut fruits and vegetables: Desirable levels, instrumental and sensory measurement, and the effects of processing. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 50, n. 5, p. 369–389, 2010.
- BARROS, S. Metodologias integradas para a conservação de kiwi minimamente processado. Tese Doutoramento em Engenharia Agro-Industrial. Instituto Superior de Agronomia - Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2007.
- BEAULIEU, J.C. Factors affecting sensory quality of fresh-cuts produce. In: MARTIN-BELLOSO, O.; SOLIVA-FORTUNY, R. Edts *Advances in Fresh-Cut Fruits and Vegetables Processing*. Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, EUA, ISBN 13-978-1-4200-7123-8, p. 115-144
- BUCKLEY, M., COWAN, C., MCCARTHY, M. The convenience food market in Great

Britain:convenience food lifestyle (CFL) segments. **Appetite**, v.49, n.3, p.600–17, 2007.

CALDERA, L., FRANZETTI, L. Effect of Storage Temperature on the Microbial Composition of Ready-to-Use Vegetables. **Current Microbiology**, v.68, p.133–139, 2014.

CALEB, O. J.;MAHAJAN, P,V,; AL-SAID, F.A.; OPARA, U.L. Modified Atmosphere Packaging Technology of Fresh and Fresh-cut Produce and the Microbial Consequences-A Review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 2, p.303–329, 2013.

CAPOZZI, V .; FIOCCO, D.; AMODIO, M.L.; GALLONE, A.;SPANO, G. Bacterial stressors in minimally processed food. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v.10, p.3076-3105, ISSN 1422-0067, 2009.

CARDOMONE, C., ALEO, A., MAMMINA, C., OLIVERI, G., DI NOTO, A.M.. Assessment of the microbiological quality of fresh produce on sale in Sicily, Italy: preliminary results. **Journal of Biological Research**, Thessaloniki,v.22, n.3, DOI 10.1186/s40709-015-0026-3, p.1-6, 2015.

CHIEN, P., SHEU, F.,YANG, F. Effects of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit. **Journal of Food Engineering**, v.78,n.1,p.225–229,2007.

COLELLI G.; ELIA A. I prodotti ortofrutticoli di IV gamma: aspetti fisiologici e tecnologici. **Review n. 9 – Italus Hortus**, v.16 , p.55-78, 2009.

Codex Alimentarius Comission. Recommended International Code of Practice: General Principles of Food Hygiene, CAC/RCP, rev. 4. p.1-1969, 2003.

DEGL'INNOCENTI, E.,GUIDI, L., PARDOSSI, A., TOGNONI, F. Biochemical Study of Leaf Browning in Minimally Processed Leaves of Lettuce (*Lactuca sativa*L. Var.Acephala). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.26, p.9980-9984, 2005.

DUARTE, C.M.P.C. Análise do Sistema de Segurança Alimentar de uma Indústria de Produtos da Pesca Congelados. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Alimentar. Instituto Superior de Agronomia - Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2010.

Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Manual de Segurança e Qualidade na Produção de Alface Minimamente Processada. Brasília: EMBRAPA/SEDE, 43 p. (Qualidade e Segurança dos Alimentos). Projeto PAS Campo. Convênio CNI/SENAI/SEBRAE/EMBRAPA, 2004.

FAO - Food and Agriculture Organization. Processing of fresh-cut tropical fruits and vegetables: A TECHNICAL GUIDE. (R. S. Rolle, Ed.) Bangkok, Thailand: FAO Regional Office for Asia and the Pacific, 2011.

FAO - Food and Agriculture Organization. The state of food insecurity in the world. The multiple dimensions of food security. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2013.

FELLOWS, P.Food Processing Technology: Principles and Practice. Second Edition. CRC Press LLC. 2000 Corporate Blvd, New York, p.409–417, 2000.

FERREIRA, D. A. Avaliação do efeito de diferentes tratamentos de descontaminação na qualidade de couve-galega minimamente processada. Trabalho de projeto para obtenção do Grau de Mestre em Gestão da Qualidade e Segurança Alimentar. Escola superior de turismo e tecnologia do mar - Instituto Politécnico de Leiria, Leiria, 2013.

FRANCIS, G. A.; GALLONE, A.; NYCHAS, G.J.; SOFOS, J.N.; COLELLI, G.; AMODIO, M.I.; SPANO, G. Factors Affecting Quality and Safety of Fresh-Cut Produce. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 52, n. 7, p. 595–610, 2012.

GARRIDO, J.M. Quality Assurance of Fresh-Cut Commodities. In: MARTIN-BELLOSO, O.; SOLIVA-FORTUNY, R. Edts Advances in Fresh-Cut Fruits and Vegetables Processing. Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, EUA, ISBN 13-978-1-4200-7123-8, p.361-375, 2011.

GIL, M., AGUAYO, E., KADER, A. Quality Changes and nutrient retention in fresh-cut versus whole fruits during storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p.4284–4296, 2006.

GIL, M. I.; SELMA, M.V.; SUSLOW, T., JACXSENS, L.,; UYTENDAELE, M.; ALLENDE, A. Pre- and Postharvest Preventive Measures and Intervention Strategies to Control Microbial Food Safety

Hazards of Fresh Leafy Vegetables. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 55, n.4, p. 453–468, 2015.

GIOVANNONI, J. Molecular biology of fruit maturation and ripening. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, v.52, p.725–49, 2001

GUADARRAMA, A. Fisiologia postcosecha de frutos. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, Maracay, Venezuela, p.139, 2001.

GUILLAUME, C., VALÉRIE, G., GONTARD, N. Modified Atmosphere Packaging of Fruits and Vegetables Modeling Approach. In: MARTIN-BELLOSO, O.; SOLIVA-FORTUNY, R. Edts *Advances in Fresh-Cut Fruits and Vegetables Processing*. Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, EUA, ISBN 13-978-1-4200-7123-8, p. 255-280, 2011.

GUINÉ, R. P. F. Projeto de uma indústria de produtos minimamente processados. **Millenium**, v. 43, p. 163–176, 2012.

HPA (Health Protection Agency). Guidelines for Assessing the Microbiological Safety of Ready-to-Eat Foods. London: Health Protection Agency, November 2009, disponível em [file:///C:/Documents%20and%20Settings/Paula/Ambiente%20de%20trabalho/Teses%202018/Guidelines\\_for\\_assessing\\_the\\_microbiological\\_safety\\_of\\_ready-to-eat\\_foods\\_on\\_the\\_market.pdf](file:///C:/Documents%20and%20Settings/Paula/Ambiente%20de%20trabalho/Teses%202018/Guidelines_for_assessing_the_microbiological_safety_of_ready-to-eat_foods_on_the_market.pdf).

ISO 9000:2005. Sistemas de gestão da qualidade: Fundamentos e vocabulário. Instituto Português da Qualidade. Monte da Caparica.

ISO 22000:2005. Sistemas de gestão da qualidade: Requisitos para qualquer organização que opere na cadeia alimentar. Instituto Português da Qualidade. Monte da Caparica.

JANG, J., MOON, K. Inhibition of polyphenol oxidase and peroxidase activities on freshcut apple by simultaneous treatment of ultrasound and ascorbic acid. **Food Chemistry**, v.124, n.2, p.444–449, 2011.

KADER, A. A. Postharvest Technology of Horticultural Crops - An Overview from Farm to Fork. **Journal of Applied Sciences and Technology**, v. 1, n. 1, p. 1–8, 2013.

KADER, A. A. Tecnología postcosecha de cultivos hortofrutícolas. n. 24, p. 584, 2011.

KADER, A.A. Biología y Tecnología Postcosecha: un Panorama Tecnología. In: KADER, A.A., PELAYO-ZALDIVAR, C. Edts *Tecnología Postcosecha de Cultivos Hortofrutícolas*. Universidad de California, División de Agricultura y Recursos Naturales, EUA, p. 45-54, 2007.

KLUGE, R.A., SILVEIRA, A.C., INESTROZA-LIZARDO, C., BERNO, N.D. Processamento mínimo de hortaliças: princípios e práticas. **Série Produtor Rural**, nº62 em Brasil: Universidade São Paulo, 2016

LAMEIRAS, C. M. P. Levantamento dos Principais Perigos/Riscos na Segurança Alimentar numa Rede de Hipermercados da Região de Lisboa. Dissertação para Obtenção do Grau de Mestre em Tecnologia e Segurança Alimentar. Faculdade de Ciências e Tecnologia - Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2011.

LAMPEL, K.A., AL-KHALDLI, S., CAHILL, S.M., *Bad Bug Book—Handbook of Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins*. Washington, DC: US Food and Drug Administration, US Department of Health and Human Services, 2012.

LEE, S. K.; KADER, A. A. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.20, n.3, p.207-220, 2000.

MAHAJAN, P. V.; CALEB J.O.; GIL M.I.; IZUMI H.; COLELLI G.; WATKINS C.B.; ZUDE M. Quality and safety of fresh horticultural commodities: Recent advances and future perspectives. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 14, p. 2–11, 2017.

MAHAJAN, P.V.; LUCA, A.; ENDELENBOS, M. Impact of Mixtures of Different Fresh-Cut Fruits on Respiration and Ethylene Production Rates. **Journal of Food Science**, v.79 (7), p.1366-1371, 2014.

MALLET, A.C.T, ROCHA, K.S., OLIVEIRA, C.F., SARON, M.L.G., SOUZA, E.B. Avaliação microbiológica de saladas cruas servidas em restaurantes do tipo self-service do município de Volta Redonda (RJ). CADERNOS UniFOA, v.34, ISSN: 1809-9475,2017,p.90-96,2017.

MANTILLA, S.P.; MANO, S.B.; VITAL, H.C.; FRANCO, R.M. Atmosfera modificada na conservação de alimentos. Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais, v. 8, n.4, p.437-448, 2010.

MARTINS, M.M.; EMPIS, J. Produtos hortofrutícolas frescos ou minimamente processados: Processamentos mínimos. Porto: Sociedade Portuguesa de Inovação; 2000

MIL-HOMENS. HACCP. Acesso a 20 de Julho de 2018, disponível em: <https://www.asae.gov.pt/seguranca-alimentar/haccp.aspx>.

MOLINA, E.B.; ZALDÍVAR, C.P.; LÓPEZ, M.L.Y. Estudios fisiológicos y tecnología poscosecha de frutas y hortalizas. Mexico: Universidad Autónoma Metropolitana,2015.

MONTEIRO, A.C.“IV GAMA VALE MAIS DE €19 MILHÕES EM PORTUGAL”. Acesso a 6 de abril de 2018, disponível em : <http://www.hipersuper.pt/2016/05/31/iv-gama-vale-mais-de-e19-milhoes-em-portugal/>, 2016.

MONTERO-CALDERÓN, M.; CERDAS-ARAYA, M.M. Fruits and Vegetables for the Fresh-Cut Processing Industry. In: MARTIN-BELLOSO, O.; SOLIVA-FORTUNY, R. Edts Advances in Fresh-Cut Fruits and Vegetables Processing. Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, EUA, ISBN 13-978-1-4200-7123-8, p.185-209, 2011.

MORETTI, C.L. Manual do processamento mínimo de Frutas e Hortalças. Brasília: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2007.

NASCIMENTO, K.D.O., AUGUSTA, I.M., RODRIGUES, N.R., PIRES, T., BATISTA, E., JÚNIOR, J.L.B., BARBOSA, M.I.M.J. Alimentos Minimamente Processados: Uma tendência de mercado. Acta Technol. v. 9, n.1, p. 48-61, 2014.

NICOLA, S.; FONTANA, E. **Fresh-Cut Produce Quality. Implications for a Systems Approach.** In Florkowski; J.W.; Shewfelt, R.L.; Brueckner, B.; Prussia, S.E. (Edits) *Postharvest Handling: A Systems Approach*. Academic Press, Waltham, MA, USA, ISBN 978-0-12-408137-6, p. 217-274, 2014.

PATRIGNANI, F.; SIROLI, L.; SERRAZANETTI, D.I.; GARDINI, F.; LANCIOTTI,R. Innovative strategies based on the use of essential oils and their components to improve safety, shelf-life and quality of minimally processed fruits and vegetables. **Trends in Food Science and Technology**, p.36, 2015.

RAGAERT, P., DEVLIEGHERE, F., DEBEVERE, J. Role of microbiological and physiological spoilage mechanisms during storage of minimally processed vegetables. **Postharvest Biol. Technol.**, v.44, p.185–194, 2007.

RAMOS, B.; MILLER, F.A.; BRANDÃO, T.R.S.; TEIXEIRA, P.; SILVA, C.L.M.Fresh fruits and vegetables - An overview on applied methodologies to improve its quality and safety. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 20, p. 1–15, 2013.

Rentokil. Segurança Alimentar (N. e. Alimentar, Produtor) Acesso A 26 de julho de 2018, disponível em Rentokil: <http://www.rentokil.pt/seguranca-alimentar/normas-e-regulamentos-de-segurancaalimentar/>.

Regulamento (CE) Nº 852/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 Abril de 2004, relativo à higiene dos géneros alimentícios. Jornal Oficial da Comunidades Europeias,2004.

Regulamento (CE) Nº 1441/2007 da Comissão de 5 de Dezembro de 2007 que altera o Regulamento (CE) n.o 2073/2005 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios. Jornal Oficial da União Europeia. p. 12-29, 2007.

RICO, D.; MARTÍNDIANA A.B.; BARAT J.M.; BARRY-RYAN C. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 18, n. 7, p. 373–386, 2007.

ROJAS-GRAÜ, M.A.; GARNER, E.; MARTÍN-BELLOSO, O. The fresh-cut fruits and vegetables industry: Current situation and market trends. In: MARTÍN-BELLOSO, O.; SOLIVA-FORTUNY, R. Edts *Advances in Fresh-Cut Fruits and Vegetables Processing*. Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, EUA, ISBN 13-978-1-4200-7123-8, p.1-12, 2011.

SANTOS, M.I.S. Caracterização de agente com potencial antimicrobiano para utilização na indústria alimentar. Tese elaborada para obtenção do grau de doutor em engenharia alimentar. Instituto Superior de Agronomia - Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2016.

SANTOS, J. S.; OLIVEIRA, M. B. P. P. Revisão: alimentos frescos minimamente processados embalados em atmosfera modificada. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 1, p. 1–14, 2012.

SANTOS, M. I.; CAVACO A., GOUVEIA, J.; NOGUEIRA, P.J.; PEDROSO, L.; FERREIRA, M.A.S.S. Evaluation of minimally processed salads commercialized in Portugal. **Food Control**, v. 23, n. 1, p. 275–281, 2012.

SANTOS, M. I.; CORREIA, C., CUNHA, M.C. C., SARAIVA, M., NOVAIS, M. R. Valores Guia para avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos a comer preparados em estabelecimentos de restauração. **Revista da ordem dos Farmacêuticos**, 64, p.66–68, 2005.

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.. Embalagem.Processamento mínimo de frutas e hortaliças: tecnologia, qualidade e sistema de embalagem.Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos., Cap. 4, p. 59-69, 2011.

SCF - Scientific Committee on Food. Risk Profile on the Microbiological Contamination of Fruits and Vegetables Eaten Raw. **Scientific Committee on Food**. (E. Commission, Ed.) Brussels, Belgium: SCF, 2002.

SILVA,D.A. RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE SALADA MISTA MINIMAMENTE PROCESSADA CONSTITUÍDA POR ALFACE ROXA (*Lactuca sativa* L. var. pira roxa), ACELGA (*Beta vulgaris* L.) E ALFACE AMERICANA (*L. sativa* L.var. “Tainá”). Dissertação para a obtenção do grau de mestre em Engenharia Agronômica. Universidade Federal de Santa Catarina - Centro de Ciências Agrárias, Florianópolis,2012.

SILVA, I. C. P.; VIEIRA, S. L. V. Alimentos minimamente processados: práticas de produção e riscos de contaminação. **Arquivos do Mudi**, v. 21, n. 1, p. 26–38, 2017.

SOLIVA-FORTUNY, R. C.; MARTÍN-BELLOSO, O. New advances in extending the shelf-life of fresh-cut fruits: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 14, n. 9, p. 341–353, 2003.

TOIVONEN, P., BRUMMELL, D. (2008). Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, v.48, n.1, p.1–14.

TOMÁS-BARBERÁN, F., ESPÍN, J. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.81, n.9, p.853–876.

TRINDADE, C.H.S.D.R., 2014. Avaliação da qualidade microbiológica de saladas preparadas em restauração pública. Dissertação para Obtenção do Grau de Mestre em em Segurança Alimentar e Saúde Pública. Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, Almada, 2014.

VALSECHI, O. A. Microbiologia dos Alimentos. São Paulo: Universidade Federal de São Carlos,2006.

VEIGA, A.; LOPES,A.;CARRILHO, E; SILVA, L.; DIAS, M.B.; SEABRA, M.J.; BORGES, M.; FERNANDES, P.; NUNES, S. Perfil de risco dos principais alimentos consumidos em Portugal. **Ministério da Economia e da Inovação**, p. 330, 2012.

VERMEULEN, A.; DEVLIEGHERE, F.; RAGAERT, P. Optimal Packaging Design and Innovative Packaging Technologies for Minimally Processed Fresh Produce. **Quantitative Methods for Food Safety and Quality in the Vegetable Industry**, p. 193–212, 2018.

